

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7678753号
(P7678753)

(45)発行日 令和7年5月16日(2025.5.16)

(24)登録日 令和7年5月8日(2025.5.8)

(51)国際特許分類			F I		
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28	
C 0 7 K	19/00	(2006.01)	C 0 7 K	19/00	
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	Z N A
C 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	15/63	(2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
			請求項の数 62 (全290頁) 最終頁に続く		
(21)出願番号 特願2021-544129(P2021-544129)			(73)特許権者 516316897		
(86)(22)出願日 令和2年1月28日(2020.1.28)			ジュノー セラピューティクス インコーポレイテッド		
(65)公表番号 特表2022-518925(P2022-518925 A)			アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 スイート 1 2 0 0		
(43)公表日 令和4年3月17日(2022.3.17)			(74)代理人 100102978		
(86)国際出願番号 PCT/US2020/015489			弁理士 清水 初志		
(87)国際公開番号 WO2020/160050			(74)代理人 100160923		
(87)国際公開日 令和2年8月6日(2020.8.6)			弁理士 山口 裕孝		
審査請求日 令和5年1月27日(2023.1.27)			(74)代理人 100119507		
(31)優先権主張番号 62/798,456			弁理士 刑部 俊		
(32)優先日 平成31年1月29日(2019.1.29)			(74)代理人 100142929		
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)			弁理士 井上 隆一		
			(74)代理人 100148699		
			最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1（ROR1）に特異的な抗体およびキメラ抗原受容体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】
重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、
該V_H領域が、Kabatのナンバリングスキームに従ってそれぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列からなる、重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）および重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含み、かつ該V_L領域が、Kabatのナンバリングスキームに従ってそれぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列からなる、軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、軽鎖相補性決定領域2（CDR-L2）および軽鎖相補性決定領域3（CDR-L3）を含む、
抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

【請求項2】
前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、請求項1記載の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

【請求項3】
重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、
該V_H領域が、SEQ ID NO:112に示されるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み

、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115に示されるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、

抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

【請求項4】

前記抗体が完全長抗体または抗原結合断片である、請求項1～3のいずれか一項記載の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

【請求項5】

前記抗原結合断片が単鎖Fv (scFv) を含む、請求項1～4のいずれか一項記載の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

【請求項6】

前記scFvが、SEQ ID NO:118に示される配列、あるいはSEQ ID NO:118に対して、少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項5記載の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

【請求項7】

請求項1～6のいずれか一項記載の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む、一本鎖細胞表面タンパク質。

【請求項8】

請求項1～6のいずれか一項記載の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片、または請求項7記載の一本鎖細胞表面タンパク質と、異種分子または異種部分とを含む、コンジュゲート。

【請求項9】

請求項1～6のいずれか一項記載の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片、または請求項7記載の一本鎖細胞表面タンパク質を含む細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通領域と、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体 (CAR)。

【請求項10】

前記細胞外抗原結合ドメインと前記膜貫通領域の間にスペーサーをさらに含む、請求項9記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項11】

前記スペーサーが、免疫グロブリンのヒンジ領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む、請求項10記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項12】

前記スペーサーが、SEQ ID NO:1、26、27、29、31、32、33または135に対して、少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項10または11記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項13】

前記ヒンジ領域が、IgG4ヒンジ領域の全部もしくは一部分、またはそのバリエーションを含む、請求項11または12記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項14】

前記スペーサーが、SEQ ID NO:135に示される配列を含む、請求項10～13のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項15】

前記膜貫通領域が、CD28に由来する膜貫通ドメインであるか、またはそれを含む、請求項9～14のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項16】

前記膜貫通領域が、ヒトCD28に由来する膜貫通ドメインを含む、請求項9～15のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項17】

前記膜貫通領域が、SEQ ID NO:8、あるいはSEQ ID NO:8に対して、少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、請求項9～16のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

20

30

40

50

【請求項 18】

前記膜貫通領域が、SEQ ID NO:8を含む、請求項9～17のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項 19】

前記細胞内シグナル伝達領域が、CD3-ゼータ（CD3ζ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインであるか、あるいはそれを含む、請求項9～18のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項 20】

前記細胞内シグナル伝達領域が、SEQ ID NO:13、14、または15に示される配列、あるいはSEQ ID NO:13、14、または15に対して、少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、請求項9～19のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

【請求項 21】

前記細胞内シグナル伝達領域が、SEQ ID NO:13に示される配列であるか、またはそれを含む、請求項9～20のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項 22】

前記細胞内シグナル伝達領域が、共刺激シグナル伝達領域をさらに含む、請求項9～21のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項 23】

前記共刺激シグナル伝達領域が、前記膜貫通領域と前記細胞内シグナル伝達領域の間にある、請求項22記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

【請求項 24】

前記共刺激シグナル伝達領域が、T細胞共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインまたはそのシグナル伝達部分を含む、請求項22または23記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項 25】

前記共刺激シグナル伝達領域が、CD28、4-1BB、またはICOSの細胞内シグナル伝達ドメインを含む、請求項22～24のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項 26】

前記共刺激シグナル伝達領域が、CD28の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、請求項22～25のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

【請求項 27】

前記共刺激シグナル伝達領域が、4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを含む、請求項22～25のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項 28】

前記共刺激シグナル伝達領域が、SEQ ID NO:12に示される配列、あるいはSEQ ID NO:12に対して、少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、請求項22～25、および27のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項 29】

前記キメラ抗原受容体が、そのN末端からC末端に向かって順に、前記細胞外抗原結合ドメイン、前記スペーサー、前記膜貫通領域、および前記細胞内シグナル伝達領域を含む、請求項10～28のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

【請求項 30】

抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む細胞外抗原結合ドメインと、スペーサーと、膜貫通領域と、細胞内シグナル伝達領域と、を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、

前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が、Kabatのナンバリングスキームに従ってそれぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列からなる、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3、ならびに、Kabatのナンバリングスキームに従ってそれぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列からなる、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含み、

50

前記スペーサーが、SEQ ID NO:135に示されるアミノ酸配列を含み、
前記膜貫通領域が、SEQ ID NO:8に示されるアミノ酸配列を含み、
前記細胞内シグナル伝達領域が、SEQ ID NO:13に示されるアミノ酸配列を含む、
抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）。

【請求項 3 1】

前記抗原結合ドメインがscFvであり、コードされている前記キメラ抗原受容体が、そのN末端からC末端に向かって順に、該scFvを含む細胞外抗原結合ドメイン；改変型IgG4ヒンジ-CH3を含むスペーサー；膜貫通ドメイン；およびCD3-ゼータ（CD3ζ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと共刺激シグナル伝達領域の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む細胞内シグナル伝達領域を含む、請求項10～29のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

【請求項 3 2】

SEQ ID NO:184に示される配列、あるいはSEQ ID NO:184に示される配列に対して、少なくとも90%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、請求項9～31のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体。

【請求項 3 3】

請求項1～6のいずれか一項記載の抗ROR1抗体またはその抗原結合ドメインをコードする核酸を含む、ポリヌクレオチド。

【請求項 3 4】

請求項9～32のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体をコードする核酸を含む、ポリヌクレオチド。

20

【請求項 3 5】

請求項33または34記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 3 6】

ウイルスベクターである、請求項35記載のベクター。

【請求項 3 7】

請求項1～6のいずれか一項記載の抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、請求項9～32のいずれか一項記載のキメラ抗原受容体、請求項33もしくは34記載のポリヌクレオチド、または請求項35もしくは36記載のベクターを含む、細胞。

【請求項 3 8】

リンパ球である、請求項37記載の細胞。

30

【請求項 3 9】

NK細胞またはT細胞である、請求項37または38記載の細胞。

【請求項 4 0】

請求項9～32のいずれか一項記載のキメラ抗原受容体、または請求項33もしくは34記載のポリヌクレオチド、または請求項35もしくは36記載のベクターを含む、T細胞。

【請求項 4 1】

前記細胞がT細胞であり、該T細胞がCD4+T細胞またはCD8+T細胞である、請求項39または40記載の細胞。

【請求項 4 2】

対象から得られた初代細胞である、請求項37～41のいずれか一項記載の細胞。

40

【請求項 4 3】

請求項37～42のいずれか一項記載の細胞を含む、組成物。

【請求項 4 4】

請求項1～6のいずれか一項記載の抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、請求項9～32のいずれか一項記載のキメラ抗原受容体、請求項33もしくは34記載のポリヌクレオチド、または請求項35もしくは36記載のベクターを含む、組成物。

【請求項 4 5】

薬学的に許容される賦形剤をさらに含む、請求項43または44記載の組成物。

【請求項 4 6】

50

前記組成物がCD4+T細胞およびCD8+T細胞を含み、該CD4+T細胞とCD8+T細胞の比が、1:3～3:1である、請求項43または45記載の組成物。

【請求項47】

前記組成物中の複数の前記細胞のうち、該複数の細胞の10%未満が、トニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す抗ROR1キメラ抗原受容体を含む、請求項43、45、および46のいずれか一項記載の組成物。

【請求項48】

ROR1と関連する疾患または障害の治療における使用のための、請求項37～42のいずれか一項記載の細胞または請求項43～47のいずれか一項記載の組成物。

【請求項49】

ROR1と関連する疾患または障害の治療のための医薬を製造するための、請求項37～42のいずれか一項記載の細胞または請求項43～47のいずれか一項記載の組成物の使用。

【請求項50】

ROR1と関連する疾患または障害の治療における使用のための、請求項1～6のいずれか一項記載の抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、請求項7記載の一本鎖細胞表面タンパク質、請求項8記載のコンジュゲート、請求項9～32のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体、請求項33もしくは34記載のポリヌクレオチド、請求項35もしくは36記載のベクター、請求項37～42のいずれか一項記載の細胞、または請求項43～47のいずれか一項記載の組成物。

【請求項51】

ROR1と関連する前記疾患または障害ががんである、請求項49記載の使用。

【請求項52】

前記がんがROR1発現がんである、請求項51記載の使用。

【請求項53】

前記がんが、ROR1を発現する固形腫瘍またはROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している、請求項51または52記載の使用。

【請求項54】

前記がんが、ROR1を発現する固形腫瘍と関連している、請求項51～53のいずれか一項記載の使用。

【請求項55】

固形腫瘍と関連している前記がんが、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌からなる群より選択される、請求項53または54記載の使用。

【請求項56】

前記固形腫瘍と関連しているがんが肺癌であり、該肺癌がNSCLCである、請求項55記載の使用。

【請求項57】

前記固形腫瘍と関連しているがんが乳癌であり、該乳癌がトリプルネガティブ乳癌（TNBC）である、請求項55記載の使用。

【請求項58】

前記がんが、ROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している、請求項51～53のいずれか一項記載の使用。

【請求項59】

前記血液悪性腫瘍が、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、パーキットリンパ腫またはマントル細胞リンパ腫（MCL）からなる群より選択される、請求項58記載の使用。

【請求項60】

請求項1～6のいずれか一項記載の抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、請求項7記載の一本鎖細胞表面タンパク質、請求項8記載のコンジュゲート、請求項9～32のいずれ

10

20

30

40

50

か一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体、請求項33もしくは34記載のポリヌクレオチド、請求項35もしくは36記載のベクター、請求項37～42のいずれか一項記載の細胞、または請求項43～47のいずれか一項記載の組成物を含むキット。

【請求項61】

癌を有する対象の治療における使用のための、請求項60記載のキット。

【請求項62】

請求項1～6のいずれか一項記載の抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、請求項7記載の一本鎖細胞表面タンパク質、請求項8記載のコンジュゲート、請求項9～32のいずれか一項記載の抗ROR1キメラ抗原受容体、請求項33もしくは34記載のポリヌクレオチド、請求項35もしくは36記載のベクター、請求項37～42のいずれか一項記載の細胞、または請求項43～47のいずれか一項記載の組成物を含む、製造物品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、「ANTIBODIES AND CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR RECEPTOR TYROSINE KINASE LIKE ORPHAN RECEPTOR 1 (ROR1)」を表題とする2019年1月29日に出願された米国仮特許出願第62/798,456号の優先権を主張し、その内容の全体を参照により組み入れる。

【0002】

配列表の参照による組み入れ

本願は電子形式の配列表と共に提出される。配列表は、2020年1月28日に作成された735042017740SeqList.txtという名称のファイルとして提供され、225キロバイトのサイズである。電子形式の配列表の情報は、その全体が参照により組み入れられる。

【0003】

分野

本開示は、いくつかの局面において、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1) 結合分子、特に、ROR1に特異的なヒト抗体、例えば抗体断片に関する。本開示はさらに、かかる抗体または断片を含むキメラ抗原受容体 (CAR) を含む組換え受容体、およびROR1に特異的な抗体、抗原結合断片、または受容体をコードするポリヌクレオチドに関する。本開示はさらに、かかるROR1結合タンパク質および受容体を含む遺伝子改変細胞、ならびに関連する方法および養子細胞療法におけるその使用に関する。

【背景技術】

【0004】

背景

受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1) は、胚形成の際に発現されるが典型的には生体の正常細胞には発現されない膜貫通受容体である。しかしながら、ROR1は、種々のいろいろながんの状況において発現し、いくつかの場合では、腫瘍細胞の生存を促進させるための細胞シグナル伝達に関与している。その発現に基づいて、ROR1は、治療の腫瘍特異的標的および/または腫瘍関連標的となり得よう。ROR1結合分子、受容体、およびかかる分子を発現する細胞が利用可能である。改善されたROR1結合分子および改変されたROR1結合受容体発現細胞が必要とされている。かかる必要性を満たす態様を提供する。

【発明の概要】

【0005】

概要

重鎖可変 (V_H) 領域および軽鎖可変 (V_L) 領域を含む抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、(i) 該V_H領域が、SEQ ID NO:67、82、もしくは52に示される配列を含む重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、SEQ ID NO:71、86、56、もしくは97に示される配列を含む重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、およびSEQ ID NO:73、88、58、もし

くは99に示される配列を含む重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3) を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:75、90、もしくは60に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、SEQ ID NO:77、92、もしくは62に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2) ; およびSEQ ID NO:79、94、もしくは64に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) を含むか ; または (ii) 該V_H領域が、SEQ ID NO:65、80、もしくは50に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:69、84、54、もしくは95に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73、88、58、もしくは99に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:75、90、もしくは60に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77、92、もしくは62に示される配列を含むCDR-L2 ; およびSEQ ID NO:79、94、もしくは64に示される配列を含むCDR-L3を含むか ; または (iii) 該V_H領域が、SEQ ID NO:66、81、もしくは51に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:70、85、55、もしくは96に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73、88、58、もしくは99に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:75、90、もしくは60に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77、92、もしくは62に示される配列を含むCDR-L2 ; およびSEQ ID NO:79、94、もしくは64に示される配列を含むCDR-L3を含むか ; または (iv) 該V_H領域が、SEQ ID NO:68、83、もしくは53に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:72、87、57、もしくは98に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:74、89、59、もしくは100に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:76、91、もしくは61に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:78、93、もしくは63に示される配列を含むCDR-L2 ; およびSEQ ID NO:79、94、もしくは64に示される配列を含むCDR-L3を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が本明細書において提供される。

【0006】

また、重鎖可変 (V_H) 領域および軽鎖可変 (V_L) 領域を含む抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、(i) 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、および重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3) を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) を含むか ; 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか ; 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか ; または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか ; (ii) 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:65、69、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか ; 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:80、84、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか ; 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:50、54、および58に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか ; または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:50、95、および99に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか ; (iii) 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:66、70、および73に示される配列を含む

CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:81、85、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:51、55、および58に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:51、96、および99に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(iv) 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:68、72、および74に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:76、78、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:83、87、および89に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:91、93、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:53、57、および59に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、63、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:53、98、および100に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:61、63、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が本明細書において提供される。

【0007】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、(i) V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(ii) V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:65、69、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(iii) V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:66、70、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または(iv) V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:68、72、および74に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:76、78、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0008】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、(i) V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(ii) V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:80、84、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(iii) V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:81、85、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または(iv) V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:83、87、および89に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:91、93、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

。

【0009】

いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

10

【0010】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、または130に含まれている重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）および重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、または106に含まれている軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、軽鎖相補性決定領域2（CDR-L2）および軽鎖相補性決定領域3（CDR-L3）を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が本明細書において提供される。

20

【0011】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、該V_H領域が、SEQ ID NO:112に含まれている重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）および重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115に含まれている軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、軽鎖相補性決定領域2（CDR-L2）および軽鎖相補性決定領域3（CDR-L3）を含むか；該V_H領域が、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が本明細書において提供される。

30

【0012】

いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:115に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

40

【0013】

50

50

【 0 0 1 4 】

50

【 0 0 1 5 】

10

【 0 0 1 6 】

20

30

40

50

%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；または該V_H領域が、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が、本明細書において提供される。

【0017】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。

【0018】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112、121、103、もしくは130に示される配列であるか、またはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:115、124、もしくは106に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含む；V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含む；V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む；またはV_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む。

【0019】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、もしくは130に示される配列であるか、またはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、もしくは106に示される配列であるか、またはそれを含み、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が、本明細書において提供される。

【0020】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、該V_H領域およびV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含み；該V_H領域およびV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含み；該V_H領域およびV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含み；または該V_H領域およびV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含み、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が、本明細書において提供される。

【0021】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、またはそれを含み。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、またはそれを含み。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、またはそれを含み。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、またはそれを含み。

【0022】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:110、119、101、または128によって、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、または128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:113、122、または104によって、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:111、120、102、または129によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:114、123、105、または131によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:110によって、あるいはSEQ ID NO:110に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列に

よってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:113によって、あるいはSEQ ID NO:113に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:111によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:114によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:119によって、あるいはSEQ ID NO:119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:122によって、あるいはSEQ ID NO:122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:120によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:123によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0023】

いずれかの態様のいくつかにおいて、抗体は完全長抗体である。いずれかの態様のいくつかにおいて、抗体は抗原結合断片である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片は単離されている。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片は組換え型である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域の少なくとも一部分は、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、その抗原結合断片は一本鎖断片であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、その抗原結合断片は単鎖Fv (scFv) であるか、またはそれを含む。

【0024】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域はV_L領域に対してアミノ末端側である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域はV_L領域に対してカルボキシ末端側である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域はフレキシブルリンカーによって連結されている。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、フレキシブルリンカーはSEQ ID NO:41に示される配列を含む。

【0025】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:118、127、109、または134に示される配列、あるいはSEQ ID NO:118、127、109、または134に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%

1%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:118に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:127に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:109に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:134に示される配列であるか、またはそれを含む。

【0026】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:116、125、107、または132によって、あるいはSEQ ID NO:116、125、107、または132に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:117、126、108、もしくは133によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:116によって、あるいはSEQ ID NO:116に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:117によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:125によって、あるいはSEQ ID NO:125に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:126によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0027】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1抗体または断片は、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションをさらに含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、免疫グロブリン定常領域の該部分は、ヒンジ領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションは、C_H2領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションは、C_H3領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションは、C_H2領域および/もしくはC_H3領

10

20

30

40

50

域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションは、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質もしくはそのバリエーションに由来する。

【0028】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片は受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1) タンパク質に特異的に結合する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1タンパク質に特異的に結合する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ヒトROR1タンパク質はSEQ ID NO:144、145、または146に示されるアミノ酸配列を含む。

10

【0029】

いずれかの態様のいくつかにおいて、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO:199に示される配列からなるエピトープまたはSEQ ID NO:199に示される配列内に存在するエピトープに特異的に結合する。いずれかの態様のいくつかにおいて、該抗体またはその抗原結合断片はさらに、SEQ ID NO:200~214のうちのいずれか1つの中から選択される配列からなる1つもしくは複数のエピトープまたはSEQ ID NO:200~214のうちのいずれか1つの中から選択される配列内に存在するエピトープにも結合する。いずれかの態様のいくつかにおいて、該1つまたは複数のエピトープは構造的エピトープを含む。

【0030】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片は、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体2 (ROR2) タンパク質には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片は、ヒトROR2タンパク質には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片の、ヒトROR2への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性は、ヒトROR1タンパク質への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性よりも、少なくとも、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低い。

20

【0031】

いずれかの態様のいくつかにおいて、該抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1タンパク質に約 $1 \times 10^{-11} \text{ M}$ ~約 $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ の平衡解離定数 (K_D) で結合する。いずれかの態様のいくつかにおいて、該抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1タンパク質に約 $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ ~約 $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ の平衡解離定数 (K_D) で結合する。いずれかの態様のいくつかにおいて、該抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1タンパク質に約 $5 \times 10^{-11} \text{ M}$ ~約 $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ の平衡解離定数 (K_D) で結合する。

30

【0032】

いずれかの態様のいくつかにおいて、該抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1タンパク質に約 $1 \times 10^{-5} \text{ 1/s}$ ~約 $1 \times 10^{-2} \text{ 1/s}$ の解離速度定数 (k_d または k_{off}) で結合する。いずれかの態様のいくつかにおいて、該抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1タンパク質に約 $1 \times 10^{-3} \text{ 1/s}$ ~約 $1 \times 10^{-2} \text{ 1/s}$ の解離速度定数 (k_d または k_{off}) で結合する。いずれかの態様のいくつかにおいて、該抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1タンパク質に約 $1 \times 10^{-5} \text{ 1/s}$ ~約 $1 \times 10^{-4} \text{ 1/s}$ の解離速度定数 (k_d または k_{off}) で結合する。

40

【0033】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む、一本鎖細胞表面タンパク質が本明細書において提供される。

【0034】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片と、異種分子または異種部分とを含む、コンジュゲートが本明細書において提供される。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、異種分子または異種部分は治療部分であ

50

る。

【0035】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）が本明細書において提供される。

【0036】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通領域と、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）が本明細書において提供される。

【0037】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、（i）該V_H領域が、SEQ ID NO:67、82、もしくは52に示される配列を含む重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、SEQ ID NO:71、86、56、もしくは97に示される配列を含む重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）およびSEQ ID NO:73、88、58、もしくは99に示される配列を含む重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:75、90、もしくは60に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、SEQ ID NO:77、92、もしくは62に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域2（CDR-L2）；およびSEQ ID NO:79、94、もしくは64に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域3（CDR-L3）を含むか；または（ii）該V_H領域が、SEQ ID NO:65、80、もしくは50に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:69、84、54、もしくは95に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73、88、58、もしくは99に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:75、90、もしくは60に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77、92、もしくは62に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79、94、もしくは64に示される配列を含むCDR-L3を含むか；または（iii）該V_H領域が、SEQ ID NO:66、81、もしくは51に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:70、85、55、もしくは96に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73、88、58、もしくは99に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:75、90、もしくは60に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77、92、もしくは62に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79、94、もしくは64に示される配列を含むCDR-L3を含むか；または（iv）該V_H領域が、SEQ ID NO:68、83、もしくは53に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:72、87、57、もしくは98に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:74、89、59、もしくは100に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:76、91、もしくは61に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:78、93、もしくは63に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79、94、もしくは64に示される配列を含むCDR-L3を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）が本明細書において提供される。

【0038】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、（i）該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）、および重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、軽鎖相補性決定領域2（CDR-L2）、および軽鎖相補性決定領域3（CDR-L3）を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2

10

20

30

40

50

、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(ii) 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:65、69、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:80、84、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:50、54、および58に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:50、95、および99に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(iii) 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:66、70、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:81、85、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:51、55、および58に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:51、96、および99に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(iv) 該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:68、72、および74に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:76、78、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:83、87、および89に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:91、93、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:53、57、および59に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、63、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:53、98、および100に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:61、63、および64に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）が本明細書において提供される。

【0039】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、(i) V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(ii) V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:65、69、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(iii) V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:66、70、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または(iv) V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:68、72、および74に示される配列を含む

CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:76、78、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0040】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、(i) V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(ii) V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:80、84、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；(iii) V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:81、85、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または(iv) V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:83、87、および89に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:91、93、および94に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

10

【0041】

また、重鎖可変(V_H)領域および軽鎖可変(V_L)領域を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体(CAR)であって、該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、または130に含まれている重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)および重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、または106に含まれている軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)および軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体(CAR)が本明細書において提供される。

20

【0042】

また、重鎖可変(V_H)領域および軽鎖可変(V_L)領域を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体(CAR)であって、該V_H領域が、SEQ ID NO:112に含まれている重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)および重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115に含まれている軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)および軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含むか；該V_H領域が、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；該V_H領域が、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または該V_H領域が、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体(CAR)が本明細書において提供される。

30

【0043】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、SEQ ID NO:115に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、SEQ ID NO:124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

40

【0044】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112、121、103、または130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約

50

50

7%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。

【0045】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。

【0046】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、または130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、または106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）が本明細書において提供される。

【0047】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、該V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列で

あるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む；該V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む；該V_H領域が、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む；または該V_H領域が、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）が本明細書において提供される。

【0048】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%も

しくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。

10

【0049】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112、121、103、もしくは130に示される配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:115、124、もしくは106に示される配列であるか、またはそれを含む。

【0050】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含む；V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含む；V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む；またはV_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む。

20

【0051】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、もしくは130に示される配列であるか、またはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、もしくは106に示される配列であるか、またはそれを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）が本明細書において提供される。

30

【0052】

また、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、該V_H領域およびV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含む；該V_H領域およびV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含む；該V_H領域およびV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む；または該V_H領域およびV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）が本明細書において提供される。

40

【0053】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、またはそれを含む。

【0054】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:110、119、101、または128によって、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、または128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%

50

もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:113、122、または104によって、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:111、120、102、もしくは129によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:114、123、105、もしくは131によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:110によって、あるいはSEQ ID NO:110に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:113によって、あるいはSEQ ID NO:113に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:111によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:114によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:119によって、あるいはSEQ ID NO:119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:122によって、あるいはSEQ ID NO:122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:120によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:123によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0055】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片は単離されている。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片は組換え型である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域の少なくとも一部分は、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する。

【0056】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、その抗原結合断片は一本鎖断片であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、その抗原結合断片は単鎖Fv (scFv) であるか、またはそれを含む。

【0057】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域はV_L領域に対してアミノ末端側である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域はV_L領域に対してカルボキシ末端側である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域およびV_L領域はフレキシブルリンカーによって連結される。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、フレキシブルリンカーはSEQ ID NO:41に示される配列を含む。

【0058】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:118、127、109、または134に示される配列、あるいはSEQ ID NO:118、127、109、または134に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:118に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:127に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:116、125、107、または132によって、あるいはSEQ ID NO:116、125、107、または132に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:117、126、108、もしくは133によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:116によって、あるいはSEQ ID NO:116に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:117によってコードさ

10

20

30

40

50

れるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:125によって、あるいはSEQ ID NO:125に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:126によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

10

【0059】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1キメラ抗原受容体は、細胞外抗原結合ドメインと膜貫通ドメインの間にスペーサーをさらに含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、免疫グロブリンの少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、免疫グロブリンのヒンジ領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、15または約15アミノ酸長未満である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:1、26、27、29、31、32、33、または135に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。

20

【0060】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域の少なくとも一部分は、IgG4ヒンジ領域の全部または一部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域の少なくとも一部分は、ヒトIgG4ヒンジ領域の全部または一部分またはそのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域の少なくとも一部分は、IgG2ヒンジ領域の全部または一部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域の少なくとも一部分は、ヒトIgG2ヒンジ領域の全部または一部分またはそのバリエーションを含む。

30

【0061】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:1に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:2または30によって、あるいはSEQ ID NO:2または30に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:30によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

40

【0062】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:135に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:192または136によって、あるいはSEQ ID NO:192または136に対

50

して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:136によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0063】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、免疫グロブリンのC_H3領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、C_H3領域の少なくとも一部分は、IgG4 C_H3の全部または一部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、C_H3領域の少なくとも一部分は、IgG2 C_H3の全部または一部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、C_H3領域の少なくとも一部分は、IgG4 C_H3および/またはIgG2 C_H3の全部または一部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、IgG4 C_H3はヒトIgG4 C_H3であり、IgG2 C_H3はヒトIgG2 C_H3である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、免疫グロブリンのヒンジ領域の少なくとも一部分およびC_H3領域の少なくとも一部分、またはそれらのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、111もしくは約111アミノ酸長、112もしくは約112アミノ酸長、113もしくは約113アミノ酸長、114もしくは約114アミノ酸長、115もしくは約115アミノ酸長、116もしくは約116アミノ酸長、117もしくは約117アミノ酸長、118もしくは約118アミノ酸長、119もしくは約119アミノ酸長、120もしくは約120アミノ酸長、121もしくは約121アミノ酸長、122もしくは約122アミノ酸長、123もしくは約123アミノ酸長、124もしくは約124アミノ酸長、または125もしくは約125アミノ酸長であるか、あるいは前記のもののいずれかの間の長さを有する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは120または約120アミノ酸長である。

【0064】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:138に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:138に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:193または139によって、あるいはSEQ ID NO:193または139に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:139によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0065】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、120または約120アミノ酸長である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スペーサーは、SEQ ID NO:3に対

10

20

30

40

50

して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:3に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:4または137によって、あるいはSEQ ID NO:4または137に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:137によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0066】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、免疫グロブリンのC_H2の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、C_H2領域の少なくとも一部分は、IgG4 C_H2の全部または一部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、C_H2領域の少なくとも一部分は、IgG2 C_H2の全部または一部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、C_H2領域の少なくとも一部分は、IgG4 C_H2および/またはIgG2 C_H2の全部または一部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、IgG4 C_H2はヒトIgG4 C_H2であり、IgG2 C_H2はヒトIgG2 C_H2である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、免疫グロブリンの、ヒンジ領域の少なくとも一部分、C_H2の少なくとも一部分、およびC_H3領域の少なくとも一部分、またはそれらのバリエーションを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、130もしくは約130アミノ酸長、140もしくは約140アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長、160もしくは約160アミノ酸長、170もしくは約170アミノ酸長、180もしくは約180アミノ酸長、190もしくは約190アミノ酸長、200もしくは約200アミノ酸長、210もしくは約210アミノ酸長、220もしくは約220アミノ酸長、221もしくは約221アミノ酸長、222もしくは約222アミノ酸長、223もしくは約223アミノ酸長、224もしくは約224アミノ酸長、225もしくは約225アミノ酸長、226もしくは約226アミノ酸長、227もしくは約227アミノ酸長、228もしくは約228アミノ酸長、229もしくは約229アミノ酸長、または230もしくは約230アミノ酸長であるか、あるいは前記のもののいずれかの間の長さを有する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域、C_H2領域、およびC_H3領域のうちの1つまたは複数は、ヒトIgG4に由来する、C_H2領域の全部または一部分およびC_H3領域の全部または一部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域、C_H2領域、およびC_H3領域のうちの1つまたは複数は、キメラであり、かつヒトIgG4およびヒトIgG2に由来するヒンジ、C_H2領域、およびC_H3領域を含む。

【0067】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、IgG4/2キメラヒンジ領域、またはヒトIgG4ヒンジと比べて少なくとも1つのアミノ酸置換を含む改変型IgG4ヒンジ領域；IgG2/4キメラC_H2領域；およびIgG4 C_H3領域を含む。

【0068】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:194に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%

、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:194に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:195または196によって、あるいはSEQ ID NO:195または196に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:196によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

10

【0069】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:37に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:37に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:38または140によって、あるいはSEQ ID NO:38または140に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:140によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

20

30

【0070】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞内シグナル伝達領域は細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞内シグナル伝達ドメインは、T細胞において一次活性化シグナルを誘導することができるか、T細胞受容体（TCR）の構成要素であるか、または免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ITAM）を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3-ゼータ（CD3ζ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインまたはその機能性バリエーションもしくはシグナル伝達部分であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記細胞内シグナル伝達ドメインは、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞内シグナル伝達ドメインは、SEQ ID NO:13、14、または15に示される配列、あるいはSEQ ID NO:13、14、または15に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞内シグナル伝達ドメインは、SEQ ID NO:13に示される配列で

40

50

あるか、またはそれを含む。

【0071】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞内シグナル伝達領域は共刺激シグナル伝達領域をさらに含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、共刺激シグナル伝達領域はT細胞共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインまたはそのシグナル伝達部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、共刺激シグナル伝達領域はCD28、4-1BB、またはICOSの細胞内シグナル伝達ドメインまたはそのシグナル伝達部分を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、共刺激シグナル伝達領域は、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、共刺激シグナル伝達領域はCD28の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。10
いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、共刺激シグナル伝達領域は、SEQ ID NO:10に示される配列、あるいはSEQ ID NO:10に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、共刺激シグナル伝達領域は4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、共刺激シグナル伝達領域はSEQ ID NO:12に示される配列、あるいはSEQ ID NO:12に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。20

【0072】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1キメラ抗原受容体は、膜貫通領域をさらに含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、共刺激シグナル伝達領域は、膜貫通領域と細胞内シグナル伝達ドメインの間にある。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通領域は、CD4、CD28、もしくはCD8に由来する膜貫通ドメインであるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通領域は、CD28に由来する膜貫通ドメインであるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通領域は、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する。30

【0073】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:8、あるいはSEQ ID NO:8に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:8に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:197または198によって、あるいはSEQ ID NO:197または198に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:198によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。40

【0074】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:149、あ

10

20

30

40

50

るいはSEQ ID NO:149に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:149に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:147または148によって、あるいはSEQ ID NO:147または148に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:148によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0075】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、コードされているキメラ抗原受容体は、そのN末端からC末端に向かって順に、細胞外抗原結合ドメイン、スペーサー、膜貫通領域、および細胞内シグナル伝達領域を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、コードされているキメラ抗原受容体は、そのN末端からC末端に向かって順に以下を含む：scFvを含む細胞外抗原結合ドメイン、改変型IgG4ヒンジを含むスペーサー；膜貫通ドメイン；およびCD3-ゼータ（CD3 ζ ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと共刺激シグナル伝達領域の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む細胞内シグナル伝達領域を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、コードされているキメラ抗原受容体は、そのN末端からC末端に向かって順に、scFvを含む細胞外抗原結合ドメイン；SEQ ID NO:135に示される配列を含む改変型IgG4ヒンジを含むスペーサー；ヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン；およびCD3-ゼータ（CD3 ζ ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと、4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを含む共刺激シグナル伝達領域の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、細胞内シグナル伝達領域。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、コードされているキメラ抗原受容体は、そのN末端からC末端に向かって順に以下を含む：scFvを含む細胞外抗原結合ドメイン；SEQ ID NO:138に示される配列を含む改変型IgG4ヒンジ-C_H3を含むスペーサー；ヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン；およびCD3-ゼータ（CD3 ζ ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと、4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを含む共刺激シグナル伝達領域の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、細胞内シグナル伝達領域。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞外抗原結合ドメインはscFvである。

【0076】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1キメラ抗原受容体は、SEQ ID NO:184、185、186、187、188もしくは189に示される配列、またはSEQ ID NO:184、185、186、187、188もしくは189に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む。

【0077】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1キメラ抗原受容体は、SEQ ID NO:184に示される配列、またはSEQ ID NO:184に示される配列に対して、少なくとも、85

30

40

50

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1（ROR1）タンパク質に特異的に結合する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体はヒトROR1タンパク質に特異的に結合する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ヒトROR1タンパク質はSEQ ID NO:144、145、または146に示されるアミノ酸配列を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体2（ROR2）タンパク質には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、ヒトROR2には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する。

10

【0080】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体の、ヒトROR2への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性は、ヒトROR1への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性よりも、少なくとも75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低い。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、結合は、同じまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで比較される。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、ROR2タンパク質の存在下では、ROR1タンパク質の存在下でのレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性と比べて、同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、ヒトROR2タンパク質の存在下では、ヒトROR1タンパク質の存在下でのレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性と比べて、同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、活性は、同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで比較される。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、ヒトROR2の存在下では、ヒトROR1の存在下でのレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性より少なくとも75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、活性は、同じまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで比較される。

20

30

【0081】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、ROR2タンパク質の存在下では、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、ヒトROR2の存在下では、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、活性は同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで比較される。

【0082】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、ROR2タンパク質の存在下では、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、ヒトROR2タンパク質の存在下では、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、活性は、同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで比較される。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより高い抗原特異的シグナル伝達または抗原依存性の活性またはシグナル伝達を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、活性は、同じまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで比較される。い

40

50

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いトニックシグナル伝達または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、活性は、同じまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで比較される。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記抗ROR1キメラ抗原受容体は、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体のトニックシグナル伝達または抗原非依存性の活性のレベルまたは度合いより少なくとも75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低いレベルまたは度合いのトニックシグナル伝達または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、活性は、同じまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで比較される。

10

【0083】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体は、抗ROR1抗体R12または抗ROR1抗体2A2またはその抗原結合断片を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体は、R12または2A2に由来するscFvを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体は、抗ROR1抗体R12またはR12もしくは2A2に由来するscFvを含む。

【0084】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合ドメイン、本明細書において提供される態様のいずれかの一本鎖細胞表面タンパク質、本明細書において提供される態様のいずれかのコンジュゲートまたは本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体の全部または一部分をコードする核酸を含むポリヌクレオチドが本明細書において提供される。

20

【0085】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:110、119、101、または128に示される配列、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、または128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:113、122、または104に示される配列、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:110に示される配列、あるいはSEQ ID NO:110に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:113に示される配列、あるいはSEQ ID NO:113に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約

30

40

50

84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:119に示される配列、あるいはSEQ ID NO:119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:122に示される配列、あるいはSEQ ID NO:122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。

10

20

【0086】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:116、125、107、または132に示される配列、あるいはSEQ ID NO:116、125、107、または132に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:116に示される配列、あるいはSEQ ID NO:116に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:125に示される配列、あるいはSEQ ID NO:125に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。

30

40

【0087】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:192に示される配列、あるいはSEQ ID NO:192に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくはは

50

約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:193に示される配列、あるいはSEQ ID NO:193に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:195に示される配列、あるいはSEQ ID NO:195に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む。

【0088】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1抗体もしくはその抗原結合ドメイン、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、または抗ROR1キメラ抗原受容体をコードする核酸は、少なくとも1つの改変型スプライスドナー部位もしくは改変型スプライスアクセプター部位または両方を含み、1つまたは複数のヌクレオチド改変を含む前記改変型スプライスドナー部位および/または改変型アクセプター部位は、参照スプライスドナー部位および/または参照スプライスアクセプター部位に対応する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該1つまたは複数のヌクレオチド改変は核酸置換を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、参照スプライスドナー部位および/または参照スプライスアクセプター部位は、標準的スプライス部位、非標準的スプライス部位、または隠れたスプライス部位である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該ポリヌクレオチドは、スプライス部位の排除によって最適化されている。

【0089】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、参照スプライスドナーまたは参照スプライスアクセプター部位または両方は、少なくとも、0.4もしくは約0.4、0.5もしくは約0.5、0.6もしくは約0.6、0.7もしくは約0.7、0.75もしくは約0.75、0.8もしくは約0.8、0.85もしくは約0.85、0.9もしくは約0.9、0.95もしくは約0.95、0.99もしくは約0.99、または1.0もしくは約1.0のスプライス部位予測スコアを有するか；あるいは、参照スプライスドナーまたは参照スプライスアクセプター部位または両方は、少なくとも、40%もしくは約40%、50%もしくは約50%、60%もしくは約60%、70%もしくは約70%、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、85%もしくは約85%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、99%もしくは約99%、または100%もしくは約100%の確率でスプライス事象に関与していると予測される。

【0090】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、参照スプライスドナーまたは参照スプライスアクセプター部位または両方は、少なくとも、0.7もしくは約0.7、0.75もしくは約0.75、0.8もしくは約0.8、0.85もしくは約0.85、0.9もしくは約0.9、0.95もしくは約0.95、0.99もしくは約0.99、または1.0もしくは約1.0のスプライス部位予測スコアを有し；かつ/あるいは、参照スプライスドナーまたは参照スプライスアクセプター部位または両

方は、少なくとも、70%もしくは約70%、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、85%もしくは約85%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、99%もしくは約99%、または100%もしくは約100%の確率でスプライス事象に関与していると予測される。

【0091】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、1つまたは複数のヌクレオチド改変のうちの少なくとも1つは、参照スプライスアクセプターおよび/または参照スプライスドナー部位のスプライス部位接合部の1、2、3、4、5、6、7、8、9または10残基内にある。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該1つまたは複数のヌクレオチド改変は、サイレントであるか、または縮重コドンをもたらすか、またはコードされるタンパク質のアミノ酸配列を変化させないか、あるいは上記のもののうちの1つまたは複数または全部である。

【0092】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該ポリヌクレオチドが細胞内で発現すると、該ポリヌクレオチドから転写されたRNAは、少なくとも、70%もしくは約70%、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、85%もしくは約85%、90%もしくは約90%、または95%もしくは約95%のRNA均一性を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該ポリヌクレオチドから転写されたRNAは、細胞内で発現すると、参照ポリヌクレオチドから転写されたmRNAの不均一性と比べて低減された不均一性を示し、前記参照ポリヌクレオチドは該ポリヌクレオチドと同じアミノ酸配列をコードし、ここで、該参照ポリヌクレオチドは、スパーサーをコードする核酸において1つもしくは複数のスプライスドナー部位または1つもしくは複数のスプライスアクセプター部位または両方の存在において異なっているか、あるいは該ポリヌクレオチドと比べて1つまたは複数のヌクレオチド改変を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、RNA不均一性は、10%もしくは約10%より大きく、15%もしくは約15%より大きく、20%もしくは約20%より大きく、25%もしくは約25%より大きく、30%もしくは約30%より大きく、40%もしくは約40%より大きく、または50%もしくは約50%より大きく、またはより大きく低減されている。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、参照ポリヌクレオチドから転写されるRNAは、10%もしくは約10%より大きい、15%もしくは約15%より大きい、20%もしくは約20%より大きい、25%もしくは約25%より大きい、30%もしくは約30%より大きい、40%もしくは約40%より大きい、または50%もしくは約50%より大きい、またはより大きいRNA不均一性を示す。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、転写されるRNAメッセンジャーRNA (mRNA)。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、RNA均一性またはRNA不均一性または両方は、アガロースゲル電気泳動、チップベースのキャピラリー電気泳動、分析用超遠心分離、フィールドフローフラクショネーションまたは液体クロマトグラフィーによって調べられる。

【0093】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該ポリヌクレオチドは、ヒト細胞での発現用にコドンが最適化されている。

【0094】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:111、120、102、または129に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:114、123、105、または131に示される配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:111に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:114に示される配列を含むV_Lをコードする核酸とを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:120に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:123に示される配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。

【0095】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:117、126、108、または133に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。い

れかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:117に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:126に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。

【0096】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:136に示される配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:139に示される配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:196に示される配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む。

10

【0097】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:156、157、158、159、160、もしくは161に示される配列、またはSEQ ID NO:156、157、158、159、160、もしくは161に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:156に示される配列、またはSEQ ID NO:156に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:156に示される配列を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:157に示される配列、またはSEQ ID NO:157に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:157に示される配列を含む。

20

【0098】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該ポリヌクレオチドは、CD33シグナル配列、GM-CSFシグナル配列、CD8シグナル配列またはIgκシグナル配列をさらに含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該ポリヌクレオチドはCD33シグナル配列をさらに含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、CD33シグナル配列は、SEQ ID NO:190に示されているか、あるいはSEQ ID NO:190に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列である。

30

40

【0099】

また、本明細書において提供される態様のいずれかのポリヌクレオチドを含むベクターが本明細書において提供される。いくつかの態様において、ベクターはウイルスベクターである。いくつかの態様において、ウイルスベクターはレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである。

【0100】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体を含む細胞が本明細書において提供される。また、本明細書において提供される態様のいずれかのポリヌクレオチドまたは本明細書において提供される態様のいずれかのベクターを含む細胞が本明細書において提供される。また、本明細書において提供される態様の抗ROR1

50

抗体もしくはその抗原結合断片、本明細書において提供される態様のいずれかのコンジュゲート、本明細書において提供される態様のいずれかの一本鎖細胞表面タンパク質、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本明細書において提供される態様のいずれかのポリヌクレオチドまたは本明細書において提供される態様のいずれかのベクターを含む細胞が本明細書において提供される。

【0101】

いくつかの態様において、細胞はリンパ球である。いくつかの態様において、細胞はNK細胞またはT細胞である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞はT細胞であり、該T細胞はCD4+T細胞またはCD8+T細胞である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞は対象から得られた初代細胞である。

10

【0102】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、複数の細胞のうち、該複数の細胞の10%未満もしくは約10%未満、9%未満もしくは約9%未満、8%未満もしくは約8%未満、7%未満もしくは約7%未満、5%未満もしくは約5%未満、4%未満もしくは約4%未満、3%未満もしくは約3%未満、2%未満もしくは約2%未満、または1%未満もしくは約1%未満が、トニックシグナル伝達または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す抗ROR1キメラ抗原受容体を含む。

【0103】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本明細書において提供される態様のいずれかのコンジュゲート、本明細書において提供される態様のいずれかの一本鎖細胞表面タンパク質または本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体を含む組成物が本明細書において提供される。

20

【0104】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの細胞を含む組成物が本明細書において提供される。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該組成物は薬学的に許容される賦形剤をさらに含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該組成物はCD4+T細胞およびCD8+T細胞を含み、CD4+T細胞とCD8+T細胞の比は1:3または約1:3から3:1である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該組成物はCD4+T細胞およびCD8+T細胞を含み、CD4+T細胞とCD8+T細胞の比は1:2または約1:2~2:1または約2:1である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該組成物はCD4+T細胞およびCD8+T細胞を含み、CD4+T細胞とCD8+T細胞の比が1:1または約1:1である。

30

【0105】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、組成物中の複数の細胞のうち、該複数の細胞の10%未満もしくは約10%未満、9%未満もしくは約9%未満、8%未満もしくは約8%未満、7%未満もしくは約7%未満、5%未満もしくは約5%未満、4%未満もしくは約4%未満、3%未満もしくは約3%未満、2%未満もしくは約2%未満、または1%未満もしくは約1%未満が、トニックシグナル伝達または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す、抗ROR1キメラ抗原受容体を含む。

【0106】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの組成物を、ROR1と関連する疾患または障害を有する対象に投与することを含む、治療方法が本明細書において提供される。

40

【0107】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本明細書において提供される態様のいずれかのコンジュゲート、本明細書において提供される態様のいずれかの一本鎖細胞表面タンパク質、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本明細書において提供される態様のいずれかのポリヌクレオチド、本明細書において提供される態様のいずれかのベクター、または本明細書において提供される態様のいずれかの細胞を、ROR1と関連する疾患または障害を有する対象に投与することを含む、治療方法が本明細書において提供される。また、RO

50

R1と関連する疾患または障害の治療における使用のための、本明細書において提供される態様のいずれかの組成物が、本明細書において提供される。また、ROR1と関連する疾患または障害の治療のための医薬を製造するための、本明細書において提供される態様のいずれかの組成物の使用が本明細書において提供される。また、ROR1と関連する疾患または障害の治療のための、本明細書において提供される態様のいずれかの組成物の使用が本明細書において提供される。また、本明細書において提供される態様のいずれかの細胞を、ROR1と関連する疾患または障害を有する対象に投与することを含む、治療方法が本明細書において提供される。

【0108】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本明細書において提供される態様のいずれかのコンジュゲート、本明細書において提供される態様のいずれかの一本鎖細胞表面タンパク質、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本明細書において提供される態様のいずれかのポリヌクレオチド、本明細書において提供される態様のいずれかのベクターまたは本明細書において提供される態様のいずれかの細胞を、ROR1と関連する疾患または障害を有する対象に投与することを含む、治療方法が本明細書において提供される。また、ROR1と関連する疾患または障害の治療における使用のための、本明細書において提供される態様のいずれかの細胞が、本明細書において提供される。また、ROR1と関連する疾患または障害の治療のための医薬を製造するための、本明細書において提供される態様のいずれかの細胞の使用が本明細書において提供される。また、ROR1と関連する疾患または障害の治療のための、本明細書において提供される態様のいずれかの細胞の使用が本明細書において提供される。

【0109】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、ROR1と関連する疾患または障害はがんである。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、がんはROR1発現がんである。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、がんは、ROR1を発現する固形腫瘍またはROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している。

【0110】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、がんは、ROR1を発現する固形腫瘍と関連している。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、固形腫瘍と関連しているがんは、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌からなる群より選択される。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、肺癌は非小細胞肺癌（NSCLC）、肺腺癌、腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌、および非定型カルチノイドである。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、肺癌は非小細胞肺癌（NSCLC）である。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、乳癌はトリプルネガティブ乳癌（TNBC）である。

【0111】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、がんは、ROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、血液悪性腫瘍は、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫またはマントル細胞リンパ腫（MCL）からなる群より選択される。

【0112】

本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、ROR1と関連する疾患または障害はがんである。本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、がんはROR1発現がんである。本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する固形腫瘍またはROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している。

【0113】

本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する固形腫瘍と関連している。本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、固形腫瘍と関連しているがんは、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、脾癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌からなる群より選択される。本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、肺癌は非小細胞肺癌（NSCLC）、肺腺癌、腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌、および非定型カルチノイドである。本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、肺癌は非小細胞肺癌（NSCLC）である。本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、乳癌はトリプルネガティブ乳癌（TNBC）である。

10

【0114】

本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している。本明細書において提供される方法のいくつかの態様において、血液悪性腫瘍は、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫、またはマントル細胞リンパ腫（MCL）からなる群より選択される。

【0115】

本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、ROR1と関連する疾患または障害はがんである。本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、がんはROR1発現がんである。本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する固形腫瘍またはROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している。

20

【0116】

本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する固形腫瘍と関連している。本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、固形腫瘍と関連しているがんは、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、脾癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌からなる群より選択される。本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、肺癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）、肺腺癌、腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌、および非定型カルチノイドである。本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、肺癌は非小細胞肺癌（NSCLC）である。本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、乳癌はトリプルネガティブ乳癌（TNBC）である。

30

【0117】

本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している。本明細書において提供される使用のための細胞または組成物のいくつかの態様において、血液悪性腫瘍は、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫、またはマントル細胞リンパ腫（MCL）からなる群より選択される。

40

【0118】

本明細書において提供される使用のいくつかの態様において、ROR1と関連する疾患または障害はがんである。本明細書において提供される使用のいくつかの態様において、がんはROR1発現がんである。本明細書において提供される使用のいくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する固形腫瘍またはROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している。

【0119】

本明細書において提供される使用のいくつかの態様において、がんは、ROR1を発現す

50

る固形腫瘍と関連している。本明細書において提供される使用のいくつかの態様において、固形腫瘍と関連しているがんは、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、膵癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌からなる群より選択される。本明細書において提供される使用のいくつかの態様において、肺癌は非小細胞肺癌（NSCLC）である。本明細書において提供される使用のいくつかの態様において、乳癌はトリプルネガティブ乳癌（TNBC）である。

【0120】

本明細書において提供される使用のいくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している。本明細書において提供される使用のいくつかの態様において、血液悪性腫瘍は、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫、またはマントル細胞リンパ腫（MCL）からなる群より選択される。

【0121】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ROR1と関連する疾患または障害は、ROR1の発現と関連している。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ROR1と関連する疾患または障害は、B細胞関連障害である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ROR1と関連する疾患または障害は、がんである。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、がんはROR1発現がんである。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、ROR1発現がんは、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫、マントル細胞リンパ腫（MCL）、非小細胞肺癌（NSCLC）、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、膵癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌からなる群より選択される。

【0122】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本明細書において提供される態様のいずれかの一本鎖細胞表面タンパク質、本明細書において提供される態様のいずれかのコンジュゲート、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本明細書において提供される態様のいずれかの細胞、または本明細書において提供される態様のいずれかの組成物と、使用説明書とを含むキットが、本明細書において提供される。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該説明書は、抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、抗ROR1キメラ抗原受容体、細胞、または組成物を投与するためのものである。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、該説明書は、本明細書において提供される態様のいずれかの方法、使用のための組成物、または使用に従うものである。

【0123】

また、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本明細書において提供される態様のいずれかの一本鎖細胞表面タンパク質、本明細書において提供される態様のいずれかのコンジュゲート、本明細書において提供される態様のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本明細書において提供される態様のいずれかの細胞、本明細書において提供される態様のいずれかの組成物または本明細書において提供される態様のいずれかのキットを含む製造物品が本明細書において提供される。

[本発明1001]

重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む、抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1（ROR1）抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112に含まれている重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）および重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115に含まれている軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、軽鎖相補性決定領域2（CDR-L2）および軽鎖相補性決定領域3（CDR-L3）を含むか；

10

20

30

40

50

該V_H領域が、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID:NO 124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；

該V_H領域が、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID:NO 106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または

該V_H領域が、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID:NO 106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、

抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1002]

前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID:NO 115に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、本発明1001の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1003]

前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID:NO 124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、本発明1001の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1004]

前記V_H領域が、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID:NO 106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、本発明1001の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1005]

前記V_H領域が、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID:NO 106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、本発明1001の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1006]

重鎖可変(V_H)領域および軽鎖可変(V_L)領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)および重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)および軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)を含むか；

該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；

該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または

該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1007]

前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、本発明1001、1002および1006のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1008]

10

20

30

40

50

前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、本発明1001、1003および1006のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1009]

前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、本発明1001、1004および1006のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1010]

前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、本発明1001、1005および1006のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1011]

前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；

前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；

前記V_H領域が、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；あるいは

前記V_H領域が、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%

10

20

30

40

50

もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、
本発明1001または本発明1006の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

10

[本発明1012]

重鎖可変(V_H)領域および軽鎖可変(V_L)領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；

20

該V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；

30

該V_H領域が、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；あるいは

40

該V_H領域が、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93

50

%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1013]

前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1001、1002、1006、1007、1011および1012のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1014]

前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1001、1003、1006、1008、1011および1012のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1015]

前記V_H領域が、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1001、1004、1006、1009、1011および1012のいずれかの抗ROR1抗体また

10

20

30

40

50

はその抗原結合断片。

[本発明1016]

前記V_H領域が、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、
本発明1001、1005、1006、1010、1011および1012のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

10

[本発明1017]

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含む；
前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含む；
前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む；または
前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む、
本発明1001、1006、1011および1012のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

20

[本発明1018]

重鎖可変(V_H)領域および軽鎖可変(V_L)領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、
該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含む；
該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含む；
該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む；または
該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む、
抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

30

[本発明1019]

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1001、1002、1006、1007、1011、1012、1013、1017および1018のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

40

[本発明1020]

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1001、1003、1006、1008、1011、1012、1014、1017および1018のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1021]

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1001、1004、1006、1009、1011、1012、1015、1017および1018のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

50

[本発明1022]

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1001、1005、1006、1010、1011、1012、1016、1017および1018のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1023]

前記抗体が完全長抗体である、本発明1001～1022のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1024]

前記抗体が抗原結合断片である、本発明1001～1022のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1025]

組換え型である、本発明1001～1024のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1026]

前記V_H領域および前記V_L領域が、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する、本発明1001～1025のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1027]

前記抗原結合断片が単鎖Fv (scFv) を含む、本発明1001～1022および1024～1026のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1028]

前記V_H領域が前記V_L領域に対してアミノ末端側である、本発明1027の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1029]

前記V_H領域が前記V_L領域に対してカルボキシ末端側である、本発明1027の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1030]

前記V_H領域および前記V_L領域が、フレキシブルリンカーによって連結されている、本発明1027～1029のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1031]

前記フレキシブルリンカーが、SEQ ID NO:41に示される配列を含む、本発明1030の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1032]

前記scFvが、SEQ ID NO:118、127、109、または134に示される配列、あるいはSEQ ID NO:118、127、109、または134に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1027、1028、1030および1031のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1033]

前記scFvが、SEQ ID NO:118に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1027、1028および1030～1032のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1034]

前記scFvが、SEQ ID NO:127に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1027、1028および1030～1032のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1035]

前記scFvが、SEQ ID NO:109に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1027、1028および1030～1032のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1036]

前記scFvが、SEQ ID NO:134に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1027、1028および1030～1032のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1037]

ヒト受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1（ROR1）タンパク質に特異的に結合する、本発明1001～1036のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1038]

前記ヒトROR1タンパク質が、SEQ ID NO:144、145、または146に示されるアミノ酸配列を含む、本発明1037の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1039]

SEQ ID NO:199に示される配列からなるエピトープまたはSEQ ID NO:199に示される配列内に存在するエピトープに特異的に結合する、本発明1037または本発明1038の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

10

[本発明1040]

SEQ ID NO:200～214のうちのいずれか1つの中から選択される配列からなる1つもしくは複数のエピトープまたはSEQ ID NO:200～214のうちのいずれか1つの中から選択される配列内に存在するエピトープにさらに結合する、本発明1037～1039のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1041]

受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体2（ROR2）タンパク質、任意でヒトROR2タンパク質、には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する、本発明1001～1040のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

20

[本発明1042]

前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片の、ヒトROR2への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性が、ヒトROR1タンパク質への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性より、少なくとも、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低い、本発明1001～1041のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1043]

約 1×10^{-11} M～約 1×10^{-7} Mの平衡解離定数（ K_D ）でヒトROR1タンパク質に結合する、本発明1001～1042のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

30

[本発明1044]

約 1×10^{-8} M～約 1×10^{-7} Mの平衡解離定数（ K_D ）でヒトROR1タンパク質に結合する、本発明1001～1043のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1045]

約 5×10^{-11} M～約 1×10^{-10} Mの平衡解離定数（ K_D ）でヒトROR1タンパク質に結合する、本発明1001～1043のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1046]

約 1×10^{-5} 1/s～約 1×10^{-2} 1/sの解離速度定数（ k_d または k_{off} ）でヒトROR1タンパク質に結合する、本発明1001～1045のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

40

[本発明1047]

約 1×10^{-3} 1/s～約 1×10^{-2} 1/sの解離速度定数（ k_d または k_{off} ）でヒトROR1タンパク質に結合する、本発明1001～1046のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1048]

約 1×10^{-5} 1/s～約 1×10^{-4} 1/sの解離速度定数（ k_d または k_{off} ）でヒトROR1タンパク質に結合する、本発明1001～1046のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

[本発明1049]

50

本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む、一本鎖細胞表面タンパク質。

[本発明1050]

本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片と、異種分子または異種部分とを含む、コンジュゲート。

[本発明1051]

前記異種分子または異種部分が治療部分である、本発明1050のコンジュゲート。

[本発明1052]

本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通領域と、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）。

[本発明1053]

前記細胞外抗原結合ドメインと前記膜貫通ドメインの間にスペーサーをさらに含む、本発明1052の抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1054]

前記スペーサーが、免疫グロブリンの少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む、本発明1053の抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1055]

前記スペーサーが、免疫グロブリンのヒンジ領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む、本発明1053または本発明1054の抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1056]

前記スペーサーが、15または約15アミノ酸長未満である、本発明1053～1055のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1057]

前記スペーサーが、SEQ ID NO:1、26、27、29、31、32、33または135に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1053～1056のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1058]

前記ヒンジ領域の少なくとも一部分が、IgG4ヒンジ領域、任意でヒトIgG4ヒンジ領域、の全部もしくは一部分、またはそのバリエーションを含む、本発明1053～1057のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1059]

前記ヒンジ領域の少なくとも一部分が、IgG2ヒンジ領域、任意でヒトIgG2ヒンジ領域、の全部もしくは一部分、またはそのバリエーションを含む、本発明1053～1057のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1060]

前記スペーサーが、SEQ ID NO:1に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1053～1058のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1061]

前記スペーサーが、SEQ ID NO:135に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1053～1058のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1062]

前記スペーサーが、免疫グロブリンのヒンジ領域の少なくとも一部分およびCH3領域の少なくとも一部分、またはそれらのバリエーションを含む、本発明1053～1055のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1063]

前記CH3領域の少なくとも一部分が、IgG4 CH3および/またはIgG2 CH3の全部または一部分を含み、該IgG4 CH3が任意でヒトIgG4 CH3であり、該IgG2 CH3が任意でヒトIgG2 CH3である、本発明1053～1055および1062のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1064]

前記スペーサーが、111もしくは約111アミノ酸長、112もしくは約112アミノ酸長、113もしくは約113アミノ酸長、114もしくは約114アミノ酸長、115もしくは約115アミノ酸長、116もしくは約116アミノ酸長、117もしくは約117アミノ酸長、118もしくは約118アミノ酸長、119もしくは約119アミノ酸長、120もしくは約120アミノ酸長、121もしくは約121アミノ酸長、122もしくは約122アミノ酸長、123もしくは約123アミノ酸長、124もしくは約124アミノ酸長、または125もしくは約125アミノ酸長であるか、あるいは前記のもののいずれかの間の長さを有する、本発明1053～1055、1062および1063のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

[本発明1065]

前記スペーサーが、120または約120アミノ酸長である、本発明1053～1055および1062～1064のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1066]

前記スペーサーが、SEQ ID NO:3または138に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1053～1055および1062～1065のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

[本発明1067]

前記スペーサーが、SEQ ID NO:3もしくは138に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1053～1055および1062～1066のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1068]

前記スペーサーが、免疫グロブリンの、ヒンジ領域の少なくとも一部分、CH2の少なくとも一部分、およびCH3領域の少なくとも一部分、またはそれらのバリエーションを含む、本発明1053～1055のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

[本発明1069]

前記CH2領域の少なくとも一部分が、IgG4 CH2および/またはIgG2 CH2の全部または一部分を含み、該IgG4 CH2が任意でヒトIgG4 CH2であり、該IgG2 CH2が任意でヒトIgG2 CH2である、本発明1053～1055および1068のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1070]

前記スペーサーが、130もしくは約130アミノ酸長、140もしくは約140アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長、160もしくは約160アミノ酸長、170もしくは約170アミノ酸長、180もしくは約180アミノ酸長、190もしくは約190アミノ酸長、200もしくは約200アミノ酸長、210もしくは約210アミノ酸長、220もしくは約220アミノ酸長、221もしくは約221アミノ酸長、222もしくは約222アミノ酸長、223もしくは約223アミノ酸長、224もしくは約224アミノ酸長、225もしくは約225アミノ酸長、226もしくは約226アミノ酸長、227もしくは約227アミノ酸長、228もしくは約228アミノ酸長、229もしくは約229アミノ酸長、または230もしくは約230アミノ酸長であるか、あるいは前記のもののいずれかの間の長さを有する、本発明1053～1055、1068および1069のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

[本発明1071]

前記ヒンジ領域、前記CH2領域、および前記CH3領域のうちの1つまたは複数、ヒトIgG4に由来するCH2領域の全部または一部分およびCH3領域の全部または一部分を含むか

50

；あるいは

前記ヒンジ領域、前記CH2領域、および前記CH3領域のうちの1つまたは複数が、キメラであり、かつヒトIgG4およびヒトIgG2に由来するヒンジ、CH2領域、およびCH3領域を含むか；あるいは

前記スペーサーが、IgG4/2キメラヒンジ領域、またはヒトIgG4ヒンジと比べて少なくとも1つのアミノ酸置換を含む改変型IgG4ヒンジ領域；IgG2/4キメラCH2領域；およびIgG4 CH3領域を含む、

本発明1053～1055および1068～1070のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1072]

前記スペーサーが、SEQ ID NO:37または194に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1053～1055および1068～1071のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1073]

前記スペーサーが、SEQ ID NO:37もしくは194に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1053～1055および1068～1072のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1074]

前記膜貫通領域が、CD4、CD28、もしくはCD8に由来する膜貫通ドメインであるか、またはそれを含む、本発明1052～1073のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1075]

前記膜貫通領域が、CD28、任意でヒトCD28、に由来する膜貫通ドメインであるか、またはそれを含む、本発明1052～1074のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1076]

前記膜貫通ドメインが、SEQ ID NO:8または149、あるいはSEQ ID NO:8または149に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1052～1075のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1077]

細胞内シグナル伝達領域が、T細胞において一次活性化シグナルを誘導することができる細胞内シグナル伝達ドメインを含み、T細胞受容体（TCR）構成要素であり、かつ/または免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ITAM）を含む、本発明1052～1076のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1078]

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、CD3-ゼータ（CD3ζ）鎖、任意でヒトCD3ζ鎖、の細胞質シグナル伝達ドメインであるか、あるいはそれを含む、本発明1052～1077のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1079]

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、SEQ ID NO:13、14、または15に示される配列、あるいはSEQ ID NO:13、14、または15に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1052～1078のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1080]

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、SEQ ID NO:13に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1052～1079のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1081]

前記細胞内シグナル伝達領域が、共刺激シグナル伝達領域をさらに含む、本発明1052～1080のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1082]

前記共刺激シグナル伝達領域が、前記膜貫通領域と前記細胞内シグナル伝達ドメインの間にあり、本発明1081の抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1083]

前記共刺激シグナル伝達領域が、T細胞共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインまたはそのシグナル伝達部分を含む、本発明1081または本発明1082の抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

[本発明1084]

前記共刺激シグナル伝達領域が、CD28、4-1BB、またはICOSの細胞内シグナル伝達ドメインを含む、本発明1081～1083のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1085]

前記共刺激シグナル伝達領域が、CD28、任意でヒトCD28、の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、本発明1081～1084のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1086]

前記共刺激シグナル伝達領域が、SEQ ID NO:10に示される配列、あるいはSEQ ID NO:10に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1081～1085のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

[本発明1087]

前記共刺激シグナル伝達領域が、4-1BB、任意でヒト4-1BB、の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、本発明1081～1084のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1088]

前記共刺激シグナル伝達領域が、SEQ ID NO:12に示される配列、あるいはSEQ ID NO:12に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1081～1084および1087のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

[本発明1089]

コードされている前記キメラ抗原受容体が、そのN末端からC末端に向かって順に、前記細胞外抗原結合ドメイン、前記スペーサー、前記膜貫通領域、および前記細胞内シグナル伝達領域を含む、本発明1081～1088のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1090]

40

前記抗原結合ドメインがscFvであり、コードされている前記キメラ抗原受容体が、そのN末端からC末端に向かって順に、該scFvを含む細胞外抗原結合ドメイン；任意でSEQ ID NO:135に示される配列を含む、改変型IgG4ヒンジを含むスペーサー；膜貫通ドメイン、任意でヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン；およびCD3-ゼータ（CD3ζ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと、任意で4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを含む共刺激シグナル伝達領域の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、細胞内シグナル伝達領域を含む、本発明1081～1089のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1091]

前記抗原結合ドメインがscFvであり、コードされている前記キメラ抗原受容体が、そのN末端からC末端に向かって順に、該scFvを含む細胞外抗原結合ドメイン；任意でSEQ ID

50

NO:138に示される配列を含む、改変型IgG4ヒンジ-CH3を含むスペーサー；膜貫通ドメイン、任意でヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン；およびCD3-ゼータ（CD3ζ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと、任意で4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを含む共刺激シグナル伝達領域の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、細胞内シグナル伝達領域を含む、本発明1081～1089のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1092]

SEQ ID NO:184、185、186、187、188、または189に示される配列、あるいはSEQ ID NO:184、185、186、187、188、または189に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1052～1091のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

[本発明1093]

SEQ ID NO:184に示される配列、あるいはSEQ ID NO:184に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1052～1092のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1094]

SEQ ID NO:184に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1052～1093のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1095]

20

SEQ ID NO:185に示される配列、またはSEQ ID NO:185に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1052～1092のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1096]

SEQ ID NO:185に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1052～1092および1095のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1097]

SEQ ID NO:186に示される配列、またはSEQ ID NO:186に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1052～1092のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

[本発明1098]

SEQ ID NO:186に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1052～1092および1097のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1099]

SEQ ID NO:187に示される配列、またはSEQ ID NO:187に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1052～1092のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

[本発明1100]

SEQ ID NO:187に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1052～1092および1099のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1101]

SEQ ID NO:188に示される配列、またはSEQ ID NO:188に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1052～1092のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1102]

SEQ ID NO:188に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1052～1092お

50

よび1101のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1103]

SEQ ID NO:189に示される配列、またはSEQ ID NO:189に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、本発明1052~1092のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1104]

SEQ ID NO:189に示される配列であるか、またはそれを含む、本発明1052~1092および1103のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

[本発明1105]

本発明1001~1048のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合ドメインをコードする核酸を含む、ポリヌクレオチド。

[本発明1106]

本発明1049の一本鎖細胞表面タンパク質をコードする核酸を含む、ポリヌクレオチド。

[本発明1107]

本発明1050または本発明1051のコンジュゲートをコードする核酸を含む、ポリヌクレオチド。

[本発明1108]

本発明1052~1104のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体をコードする核酸を含む、ポリヌクレオチド。

[本発明1109]

スプライス部位排除によって最適化されている、本発明1105~1108のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1110]

ヒト細胞での発現用にコドンが最適化されている、本発明1105~1109のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1111]

本発明1105~1110のいずれかのポリヌクレオチドを含む、ベクター。

[本発明1112]

ウイルスベクターである、本発明1111のベクター。

[本発明1113]

前記ウイルスベクターが、レトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである、本発明1112のベクター。

[本発明1114]

本発明1001~1048のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本発明1049の一本鎖細胞表面タンパク質、または本発明1050もしくは本発明1051のコンジュゲートを含む、細胞。

[本発明1115]

本発明1052~1104のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体を含む、細胞。

[本発明1116]

本発明1105~1110のいずれかのポリヌクレオチドまたは本発明1111~1113のいずれかのベクターを含む、細胞。

[本発明1117]

リンパ球である、本発明1114~1116のいずれかの細胞。

[本発明1118]

NK細胞またはT細胞である、本発明1114~1116のいずれかの細胞。

[本発明1119]

前記細胞がT細胞であり、該T細胞がCD4+T細胞またはCD8+T細胞である、本発明1114~1118のいずれかの細胞。

[本発明1120]

10

20

30

40

50

対象から得られた初代細胞である、本発明1114～1119のいずれかの細胞。

[本発明1121]

複数の前記細胞のうち、該複数の細胞の10%未満もしくは約10%未満、9%未満もしくは約9%未満、8%未満もしくは約8%未満、7%未満もしくは約7%未満、5%未満もしくは約5%未満、4%未満もしくは約4%未満、3%未満もしくは約3%未満、2%未満もしくは約2%未満、または1%未満もしくは約1%未満が、トニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す抗ROR1キメラ抗原受容体を含む、本発明1114～1120のいずれかの細胞。

[本発明1122]

本発明1114～1121のいずれかの細胞を含む、組成物。

10

[本発明1123]

本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本発明1049の一本鎖細胞表面タンパク質、本発明1050もしくは本発明1051のコンジュゲート、または本発明1052～1104のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体を含む、組成物。

[本発明1124]

薬学的に許容される賦形剤をさらに含む、本発明1122または本発明1123の組成物。

[本発明1125]

前記組成物がCD4+T細胞およびCD8+T細胞を含み、該CD4+T細胞とCD8+T細胞の比が、1:3または約1:3～3:1または約3:1、任意で1:2または約1:2～2:1または約2:1、任意で1:1または約1:1である、本発明1122または本発明1124の組成物。

20

[本発明1126]

前記組成物中の複数の前記細胞のうち、該複数の細胞の10%未満もしくは約10%未満、9%未満もしくは約9%未満、8%未満もしくは約8%未満、7%未満もしくは約7%未満、5%未満もしくは約5%未満、4%未満もしくは約4%未満、3%未満もしくは約3%未満、2%未満もしくは約2%未満、または1%未満もしくは約1%未満が、トニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す抗ROR1キメラ抗原受容体を含む、本発明1122、1124および1125のいずれかの組成物。

[本発明1127]

本発明1114～1121のいずれかの細胞または本発明1122～1126のいずれかの組成物を、ROR1と関連する疾患または障害を有する対象に投与することを含む、治療方法。

30

[本発明1128]

ROR1と関連する疾患または障害の治療における使用のための、本発明1114～1121のいずれかの細胞または本発明1122～1126のいずれかの組成物。

[本発明1129]

ROR1と関連する疾患または障害の治療のための医薬を製造するための、本発明1114～1121のいずれかの細胞または本発明1122～1126のいずれかの組成物の使用。

[本発明1130]

ROR1と関連する疾患または障害の治療のための、本発明1114～1121のいずれかの細胞または本発明1122～1126のいずれかの組成物の使用。

[本発明1131]

40

本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本発明1049の一本鎖細胞表面タンパク質、本発明1050もしくは本発明1051のコンジュゲート、本発明1052～1104のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本発明1105～1110のいずれかのポリヌクレオチド、または本発明1111～1113のいずれかのベクターを、ROR1と関連する疾患または障害を有する対象に投与することを含む、治療方法。

[本発明1132]

ROR1と関連する疾患または障害の治療における使用のための、本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本発明1049の一本鎖細胞表面タンパク質、本発明1050もしくは本発明1051のコンジュゲート、本発明1052～1104のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本発明1105～1110のいずれかのポリヌクレオチド、

50

または本発明1111～1113のいずれかのベクター。

[本発明1133]

ROR1と関連する疾患または障害の治療のための医薬を製造するための、本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本発明1049の一本鎖細胞表面タンパク質、本発明1050もしくは本発明1051のコンジュゲート、本発明1052～1104のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本発明1105～1110のいずれかのポリヌクレオチド、または本発明1111～1113のいずれかのベクターの使用。

[本発明1134]

ROR1と関連する疾患または障害の治療のための、本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本発明1049の一本鎖細胞表面タンパク質、本発明1050もしくは本発明1051のコンジュゲート、本発明1052～1104のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本発明1105～1110のいずれかのポリヌクレオチド、または本発明1111～1113のいずれかのベクターの使用。

[本発明1135]

ROR1と関連する前記疾患または障害ががんである、本発明1127～1134のいずれかの方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1136]

前記がんがROR1発現がんである、本発明1135の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1137]

前記がんが、ROR1を発現する固形腫瘍またはROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している、本発明1127～1136のいずれかの方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1138]

前記がんが、ROR1を発現する固形腫瘍と関連している、本発明1127～1137のいずれかの方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1139]

固形腫瘍と関連している前記がんが、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌からなる群より選択される、本発明1137または本発明1138の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1140]

前記肺癌が、非小細胞肺癌（NSCLC）、肺腺癌、腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌、および非定型カルチノイドである、本発明1139の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1141]

前記肺癌がNSCLCである、本発明1140の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1142]

前記乳癌がトリプルネガティブ乳癌（TNBC）である、本発明1139の方法、あるいは使

10

20

30

40

50

用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1143]

前記がんが、ROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している、本発明1127～1137のいずれかの方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1144]

前記血液悪性腫瘍が、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫またはマントル細胞リンパ腫（MCL）からなる群より選択される、本発明1143の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

[本発明1145]

本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本発明1049の一本鎖細胞表面タンパク質、本発明1050もしくは本発明1051のコンジュゲート、本発明1052～1104のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本発明1105～1110のいずれかのポリヌクレオチド、1111～1113のいずれかのベクター、本発明1114～1121のいずれかの細胞または本発明1122～1126のいずれかの組成物と、使用説明書とを含むキットであって、任意で該説明書が、該抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、該一本鎖細胞表面タンパク質、該コンジュゲート、該抗ROR1キメラ抗原受容体、該細胞、または該組成物を、任意で本発明1127～1144のいずれかの方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用に従って、投与するためのものである、キット。

[本発明1146]

本発明1001～1048のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、本発明1049の一本鎖細胞表面タンパク質、本発明1050もしくは本発明1051のコンジュゲート、本発明1052～1104のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、本発明1105～1110のいずれかのポリヌクレオチド、1111～1113のいずれかのベクター、本発明1114～1121のいずれかの細胞、または本発明1122～1126のいずれかの組成物、あるいは本発明1145のキットを含む、製造物品。

【図面の簡単な説明】

【0124】

【図1】 図1は、実施例1に記載のスクリーニングから選択された候補抗ROR1 CARを発現する初代T細胞における、プレートに結合させた組換えROR1-Fcでの24時間の刺激後のGFP+CD4+T細胞におけるICSによるIFN- γ 、TNF- α 、またはIL-2の、抗ROR1（R12）参照CAR発現細胞における各サイトカインのレベルと比べた、相対的細胞内発現レベルを示す。

【図2】 図2は、実施例1に記載のスクリーニングから選択された候補抗ROR1 CARを発現する初代T細胞における、ROR1発現MDA-MB-231標的細胞との24～70時間の共培養後の、ICSによるIFN- γ 、TNF- α またはIL-2の抗ROR1（R12）参照CAR発現細胞における各サイトカインのレベルと比べた相対的細胞内発現レベルを示す。

【図3】 図3A～3Bは、0～70時間の期間にわたって赤色蛍光シグナルの減少を測定することによって評価した、NucLight Red（NLR）標識H1975標的細胞と、6種類の選択された候補抗ROR1 CARのうちの1種類を発現している初代T細胞との共培養後のインビトロ細胞傷害性アッセイの結果を示す。対照として、標的細胞のみの培養物、およびモック細胞（CARを発現していない）と標的細胞との共培養物を評価した。

【図4A】 図4A～4Cは、2例の別個のドナーに由来する、6種類の選択された候補抗ROR1

CARのうちの1種類を発現している初代T細胞の、H1975との70時間の共培養後のIFN- γ 、TNF- α 、もしくはIL-2の産生（図4Aおよび4B）またはMDA-MB-231、A549、もしくはBT-549標的細胞との共培養後のIL-2の産生（図4C）を示す。対照として、標的細胞のみの培養物、およびモック細胞（CARを発現していない）と標的細胞との共培養物を評価した。

【図4B】図4Aの説明を参照。

【図4C】図4Aの説明を参照。

【図5A】図5A～5Dは、H1975非小細胞肺癌（NSCLC）マウスモデルにおける、6種類の選択された候補抗ROR1 CARのうちの1種類または抗ROR1（R12）参照CARを発現する細胞の投与後の平均腫瘍体積または個々の腫瘍体積の変化によって評価した抗腫瘍活性を示す。図5A（低用量）および図5B（高用量）は、すべての処置マウスの平均腫瘍体積を示す；この図において、腫瘍曲線は、群内で最初にマウスが疾患により死亡した後、終結させた。すべての個々のマウスの結果を図5C（低用量）または図5D（高用量）に示す。対照として、CARを発現していない細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置にした。

【図5B】図5Aの説明を参照。

【図5C】図5Aの説明を参照。

【図5D】図5Aの説明を参照。

【図6】図6A～6Bは、6種類の選択された候補抗ROR1 CARのうちの1種類または抗ROR1（R12）参照CARを発現する細胞を低用量（図6A）または高用量（図6B）で投与した後のH1975非小細胞肺癌（NSCLC）マウスモデルのカプラン・マイヤー生存曲線を示す。

【図7-1】図7A～7Dは、6種類の選択された候補抗ROR1 CARのうちの1種類または抗ROR1（R12）参照CARを発現する細胞を低用量（図7Aおよび7B）または高用量（図7Cおよび7D）で投与した後10日目および24日目に測定された各マウスの血液中のCD4+およびCD8+CAR発現細胞の平均数を示す。図7E～7Fは、6種類の選択された候補抗ROR1 CARのうちの1種類または抗ROR1（R12）参照CARを発現する細胞を低用量（図7E）または高用量（図7F）で投与した後10日目および24日目に測定された各マウスの血液中のCD3+CAR発現細胞の平均数を示す。データを個々の値として群平均±標準偏差と共に示す。

【図7-2】図7-1の説明を参照。

【図7-3】図7-1の説明を参照。

【図8-1】図8A～8Cは、抗ROR1 CAR-F、CAR-A、またはR12参照CARを発現する細胞を低用量（平均:図8A；個々:図8C）または高用量（平均:図8B；個々:図8C）で投与したH1975非小細胞肺癌（NSCLC）マウスにおける平均腫瘍体積および個々の腫瘍体積の変化を示す。対照として、CARを発現していない細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置にした。

【図8-2】図8-1の説明を参照。

【図9】図9A～9Bは、低用量（図9A）または高用量（図9B）でマウスに投与した抗ROR1 CAR-F、CAR-A、またはR12参照CARを発現する細胞の投与後のカプラン・マイヤー生存曲線を示す。対照として、CARを発現していない細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置にした。

【図10-1】図10A～10Dは、抗ROR1 CAR-F、CAR-A、またはR12参照CARを発現する細胞の低用量（図10Aおよび10B）または高用量（図10Cおよび10D）での投与後7、14および21日目の血液1マイクロリットルあたりのCD4+（図10Aおよび10C）ならびにCD8+（図10Bおよび10D）CAR+T細胞の平均カウント数を示す。

【図10-2】図10-1の説明を参照。

【図11】図11A～11Bは、抗ROR1 CAR-F、CAR-A、またはR12参照CARを発現する細胞の投与後14日目の腫瘍内に存在するCD4+（図11A）およびCD8+（図11B）CAR+T細胞の数を示す。

【図12A】図12A～12Cは、MDA-MB-231トリプルネガティブ乳癌マウスモデルにお

10

20

30

40

50

ける、抗ROR1 CAR-F、CAR-A、またはR12参照CARを発現する細胞の低用量（図12B）または高用量（図12C）での投与後およそ49日目まで評価した生物発光画像を示す。対照として、CARを発現していない細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置にした（図12A）。

【図12B】図12Aの説明を参照。

【図12C】図12Aの説明を参照。

【図13-1】図13A~13Cは、MDA-MB-231トリプルネガティブ乳癌マウスモデルにおける、抗ROR1 CAR-F、CAR-A、またはR12参照CARを発現する細胞の低用量（図13A）または高用量（図13B）での投与後およそ49日目まで評価した生物発光イメージングによる全光束の測定値（p/s）の平均を示し、群平均±標準誤差として示している。図13Cは、個々のマウスの全光束の測定値（p/s）を示す。対照として、CARを発現していない細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置にした。

10

【図13-2】図13-1の説明を参照。

【図14A-B】図14A~14Eは、抗ROR1 CAR-F、CAR-A、またはR12参照CARを発現する細胞を低用量（平均:図14A）または高用量（平均:図14B）で投与したMDA-MB-231トリプルネガティブ乳癌モデルマウスにおける平均腫瘍体積および個々の腫瘍体積の変化を示す。抗ROR1 CAR Fおよび参照CAR R12を発現しているT細胞の投与後、同じ試験におけるさらなる時間点までの平均腫瘍体積の変化を、高用量（図14C）および低用量（図14D）について示す。高用量または低用量における各処置条件での個々の処置マウスの腫瘍体積の結果を図14Eに示す。平均腫瘍体積を、処置群のすべてのマウスが生存していた最後の日まで群平均±標準誤差として示す。対照として、CARを発現していない細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置にした。

20

【図14C】図14A-Bの説明を参照。

【図14D】図14A-Bの説明を参照。

【図14E】図14A-Bの説明を参照。

【図15】図15Aおよび15Bは、抗ROR1 CAR-F、またはR12参照CARを発現する細胞を低用量（図15B）または高用量（図15A）で投与したMDA-MB-231トリプルネガティブ乳癌モデルマウスにおけるカプラン・マイヤー生存曲線を示す。対照として、CARを発現していない細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置にした。

【図16-1】図16A~16Dは、抗ROR1 CAR-F、CAR-A、またはR12参照CARを発現する細胞の低用量（図16Aおよび16B）または高用量（図16Cおよび16D）での投与後7、14、21および30日目に測定された動物の血液中のCD4+（図16Aおよび16C）ならびにCD8+（図16Bおよび16D）CAR発現細胞の平均数を示す。また、7、14、21および30日目に測定された、抗ROR1 CAR-FまたはR12参照CARを発現する細胞を投与した各マウスの血液中のCD3+CAR発現細胞（CD45+CD3+CAR+）の平均数を図16Eに示す。図示のように、抗ROR1 CAR-Fを発現する細胞は、MDA-MB-231マウスモデルにおいて、高用量および低用量のどちらで投与した場合も高い拡大増殖を示した。

30

【図16-2】図16-1の説明を参照。

【図16-3】図16-1の説明を参照。

【図17】図17は、2例の原発性CLLドナーに由来する、抗ROR1 CAR-F、抗CD19 CAR、またはR12参照CARを発現する改変細胞との2つのE:T比での共培養を約6日間行ったRapid Red標識標的細胞（CD4/CD8 T細胞枯渇白血球アフェレーシス試料）の減少を示す。

40

【図18A】図18Aは、2例の原発性CLLドナーから生成された、抗ROR1 CAR-F、抗CD19 CAR、またはR12参照CARを発現する改変細胞との2つのE:T比での共培養を約4日間行ったCD19+標的細胞またはCD19+ROR1+標的細胞（CD4/CD8 T細胞枯渇白血球アフェレーシス試料）の減少を示す、フローサイトメトリーによる細胞傷害性アッセイの結果を示す。

【図18B】図18Bは、CellTrace（商標）Violet（CTV）細胞増殖試薬で標識し、CLLを有する対象に由来する標的細胞と2.5:1および0.25:1のE:T比で共培養した、CAR発現細胞（抗ROR1 CAR-F、抗CD19 CAR、またはR12参照CAR）の増殖を示す。

50

【図18C】図18Cは、4日目の共培養物の上清により評価したIFN- γ 、TNF- α 、およびIL-2の産生を示す。モック処理細胞または標的細胞のみを対照として比較した。

【図19】図19A～19Dは、ホタルルシフェラーゼと緑色蛍光タンパク質（FfLuc-GFP）を発現するヒトマントル細胞リンパ腫（MCL）JeKo-1細胞を移植し、抗ROR1 CAR-F、抗CD19、またはR12参照CARを発現する細胞を高用量（平均:図19A；個々:図19C）または低用量（平均:図19B；個々:図19D）で投与した、マントル細胞リンパ腫（MCL）のマウスモデルにおける、平均腫瘍体積および個々の腫瘍体積の変化を示す。対照として、CARを発現していない細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置にした。

【図20】図20A～20Bは、抗ROR1 CAR-F、抗CD19、またはR12参照CARを発現する細胞を高用量（図20A）または低用量（図20B）で投与したMCLのマウスモデルにおけるカプラン・マイヤー生存曲線を示す。対照として、CARを発現していない細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置にした。

【図21】図21は、改変された抗ROR1 CAR-F、抗CD19、またはR12参照CARを発現する細胞の低用量または高用量での投与後7、14、21および28日目に測定されたMCLのマウスモデルの血液中のCD3+CAR発現細胞の平均数を示す。

【図22A】図22A～22Eは、183、61.0、20.33、6.78、および2.26nMの濃度の組換えヒトROR1の後続注射によって実施されるマルチサイクルカイネティクスを用いた表面プラズモン共鳴（SPR）によって評価した、C末端6×Hisタグ（ROR1 ECD 6×His）に対する、抗ROR1 scFv ROR1-1（SEQ ID NO:118；図22A）、ROR1-2（SEQ ID NO:127；図22B）、ROR1-3（SEQ ID NO:109；図22C）およびROR1-4（SEQ ID NO:134；図22D）、CAR-A、CAR-F、CAR-G、CAR-I、CAR-R、およびCAR-B1のscFv結合ドメイン、ならびに参照CAR R12のscFv抗原結合ドメイン（SEQ ID NO:142；図22E）を含む種々の組換え産生抗ROR1 scFv-mFcの結合を示す。

【図22B】図22Aの説明を参照。

【図22C】図22Aの説明を参照。

【図22D】図22Aの説明を参照。

【図22E】図22Aの説明を参照。

【図23】図23は、K562-ROR1-TetOn細胞株における、512ng/mLから0ng/mLまでのドキシサイクリンの段階的2倍希釈系列に応答したROR1の発現を示す。ROR1-親K562細胞、2つの内因性発現ROR1+細胞株、MCL細胞株JeKo-1、およびTNBC細胞株MDA-MB-231を対照として使用した。

【図24】図24は、漸増濃度のドキシサイクリンの添加を伴った抗ROR1 CAR-Fまたは参照CAR R12を発現する改変細胞とK562-ROR1-TetOnとの4:1のE:T比での72時間共培養物の上清により評価した、IFN γ 、IL-2、およびTNF α の産生の用量応答曲線を示す。CARを発現していない細胞（モック）を対照として使用した。

【図25A】図25A～25Bは、種々の濃度（2ng/mL～512ng/mL）のドキシサイクリンおよび抗ROR1 CAR-Fまたは参照CAR R12発現改変細胞の存在下、4:1のE:T比でおよそ72時間培養したNucLight Red標識K562-ROR1-TetOn細胞からの赤色蛍光シグナルの減少によって測定した細胞傷害性アッセイの結果を示す。DMSO、ドキシサイクリンなし、および未処理細胞を対照として使用した。

【図25B】図25Aの説明を参照。

【図26】図26は、ヒトROR1（hROR1）またはマウスROR1（mROR1）を発現するように改変されたCT26細胞と共培養した、ROR1 CAR-FまたはROR1 R12 CARのいずれかを発現するJurkat Nur77レポーター細胞におけるROR1の種間交差反応性の評価を示す。K562細胞および非改変CT26細胞を非特異的対照として使用した。

【発明を実施するための形態】

【0125】

詳細な説明

受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1（ROR1）結合分子、例えば抗体（例えば、抗原結合抗体断片、例えば一本鎖断片、例えば単鎖Fv断片（scFv））およびかかる抗体

10

20

30

40

50

または断片を含む組換え受容体、例えばキメラ受容体およびかかる抗体、断片、または組換え受容体をコードする核酸が提供される。いくつかの局面において、ROR1ならびにROR1を発現する細胞および疾患を標的とするか、またはそれらに指向される、抗体、断片およびキメラ抗原受容体（CAR）が提供される。ROR1は、悪性腫瘍などのある特定の疾患および病態と関連している細胞または組織において、例えば骨髓腫が再発した患者もしくは新たに骨髓腫と診断された患者などに由来する例えば悪性形質細胞上に発現され、正常組織にはほとんど発現されないことが観察されている。提供される態様の中には、疾患および病態の治療に有用な、および/またはかかる細胞型を標的とするために有用なアプローチ、例えばROR1結合抗体、断片、または受容体をコードする核酸分子ならびにコードされている抗体または抗原結合断片および受容体がある。また、それを含む組成物および製造物品が提供される。該受容体は概して、ROR1に特異的な抗体（抗原結合抗体断片、例えば重鎖可変（V_H）領域、シングルドメイン抗体断片および一本鎖断片、例えばscFvを含む）を、例えば抗原結合ドメインとして含み得る。また、かかるROR1結合受容体、例えば抗ROR1 CARを発現している、および/またはかかる受容体をコードする核酸を含んでいる細胞、例えば改変細胞または組換え細胞ならびにかかる細胞を含む組成物および製造物品および治療用量が提供される。また、該抗体および断片の作製方法および使用方法ならびに例えば該抗体またはその断片の産生のための、該抗体および断片を発現しているか、または該抗体および断片を含んでいる細胞が提供される。また、かかる抗体、抗原結合断片、受容体または細胞を含む組成物、例えば薬学的組成物およびかかる抗体または断片を含むコンジュゲートが提供される。いくつかの局面において、提供される組成物、抗体、抗原結合断片、受容体または細胞は治療法または治療方法との関連において使用され得る。

【0126】

抗ROR1抗体などを用いてROR1を標的とする治療法または養子細胞療法（例えば、キメラ受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）および/またはROR1に特異的な他の組換え抗原受容体を発現する細胞の投与を伴うもの、ならびに他の養子免疫細胞および養子T細胞療法）は、がんおよび他の疾患および障害の治療に有効であり得る、例えばROR1。一部の特定の状況では、養子細胞療法に対して利用可能なアプローチは、常に完全に満足のものではない場合もあり得る。いくつかの局面において、投与された細胞が、標的、例えば標的抗原、例えばROR1を認識して結合する能力、対象、腫瘍およびその環境内に輸送、局在化および成功裡に適切な部位に進入する能力、活性化状態になり、増殖する能力、細胞傷害性致死および種々の因子、例えばサイトカインの分泌などの種々のエフェクター機能を奏する能力、例えば、長期間持続する能力、分化、移行あるいはクリアランスおよび標的リガンドもしくは抗原への再曝露後、有効でロバストなリコール応答をもたらす特定の表現型状態へのリプログラミングに関与し、疲弊、アネルギー、最終分化および/または抑制状態への分化を回避もしくは低減する能力。

【0127】

いくつかの状況において、抗原結合ドメインを含む抗体または組換え受容体が特異的に結合する、認識する、または標的とする特定の標的抗原の特性は、該受容体の活性に影響を及ぼす場合があり得る。いくつかの状況において、ROR1は、ある種のがんによって発現され、細胞療法のための魅力的な治療標的となる。抗体または細胞療法に対する最適な応答のための、特に、ROR1に特異的に結合する、ROR1を認識する、またはROR1を標的とする組換え受容体のための改善された戦略が必要とされている。かかる必要性を満たす態様を提供する。

【0128】

いくつかの局面において、提供される態様は、提供されるROR1結合分子、例えばキメラ抗原受容体（CAR）を発現する改変細胞を投与すると、改善された抗原特異的活性、シグナル伝達および機能、高い抗腫瘍活性、一貫した抗原依存性の活性またはシグナル伝達、より大きいか、またはより長期のインビボ拡大増殖、ならびに投与したときの持続の改善が示されるが、示される抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達または異なる抗原と

の交差反応性は最小限であるという観察結果に基づいている。かかる抗体および組換え受容体は、特定の疾患および障害（例えば、ROR1の発現と関連するもの）の安全で有効な治療を推進するために使用され得る。

【0129】

いくつかの状況において、治療に対する最適な応答は、該抗体もしくは抗原結合断片またはかかる抗体もしくは抗原結合断片を抗原結合ドメインとして含む組換え受容体が標的抗原を認識する能力に依存し得る。いくつかの局面において、本明細書において、一部の特定の提供される抗体または抗原結合断片のROR1に対する結合親和性、特異性または結合速度論は、例えば、組換え受容体（例えば、CAR）の抗原結合ドメインとして存在する場合、治療に対する改善された応答またはより大きな応答と関連し得ることが観察されている。いくつかの局面において、提供される態様は、提供される結合分子が、ROR1に対して、利用可能な抗体と比べて低い結合親和性および/または速い解離速度定数（ k_{off} または k_d ；速いオフレート）を示し、また、改善された抗腫瘍活性、より大きいか、もしくはより長期のインビボ拡大増殖、改善された持続および/または低減された抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達も示すという観察結果に基づいている。いくつかの局面において、より低い結合親和性（例えば、より高い平衡解離定数）を有する抗原結合ドメイン（例えば、抗体またはその抗原結合断片）を含む組換え受容体を発現する改変細胞（例えば、T細胞）は、例えば、種々のいろいろな型の腫瘍に対して相当改善されたインビボ拡大増殖、持続の向上、より大きいか、または改善された抗原特異的抗腫瘍活性および生存の長期化を示し得る。

【0130】

いくつかの局面において、より速い解離速度定数（ k_{off} または k_d ；速いオフレート）を有する抗原結合ドメイン（例えば、抗体またはその抗原結合断片）を含む組換え受容体を発現する改変細胞（例えば、T細胞）は、例えば、種々のいろいろな型の腫瘍に対して相当改善されたインビボ拡大増殖、持続の向上、より大きいか、または改善された抗原特異的抗腫瘍活性および生存の長期化を示し得る。いくつかの局面において、より低い結合親和性（例えば、より高い平衡解離定数）およびより速い解離速度定数（ k_{off} または k_d ；速いオフレート）を有する抗原結合ドメイン（例えば、抗体またはその抗原結合断片）を含む組換え受容体を発現する改変細胞（例えば、T細胞）は、例えば、種々のいろいろな型の腫瘍に対して相当改善されたインビボ拡大増殖、持続の向上、より大きいか、または改善された抗原特異的抗腫瘍活性および生存の長期化を示し得る。理論に拘束されることを望まないが、いくつかの局面において、本明細書において、ROR1結合に対する例示的な抗ROR1 CARの結合ドメインの高い抗原結合オフレートは、低抗原レベルに対する該CARの高い感受性に潜在的に寄与することが観察されている。

【0131】

いくつかの状況において、治療、例えば細胞療法に対する最適な応答は、改変組換え受容体（例えばCAR）が細胞表面上に常に確実に発現される能力および/または標的抗原に結合する能力に依存し得る。例えば、いくつかの場合において、導入された導入遺伝子（例えば、組換え受容体をコードしている）からの転写されたRNAの不均一性は、いくつかの場合において、細胞療法に使用される細胞、例えばヒトT細胞において発現される場合、該組換え受容体の発現および/または活性に影響を及ぼし得る。

【0132】

いくつかの状況において、組換え受容体（例えばCAR）におけるスペーサーの長さおよび型は該受容体の発現、活性および/または機能に影響を及ぼし得る。

【0133】

また、いくつかの状況において、一部の特定の組換え受容体は抗原非依存性の活性またはシグナル伝達（「トニックシグナル伝達」としても知られる）を示し得、これにより、例えば該組換え受容体を発現するT細胞の分化および/または疲弊の増大のため望ましくない効果をもたらされることがあるかもしれない。いくつかの局面では、かかる活性によって該T細胞の活性、効果または有効性が制限され得る。いくつかの場合において、組換え

受容体の発現用の細胞の改変およびエキソビボ拡大増殖の際、該組換え受容体を介するトニックシグナル伝達のため該細胞が疲弊を示す表現型を示す場合があり得る。

【0134】

特許文書、科学論文およびデータベースを含めて、本出願において参照されるすべての刊行物は、あたかもそれぞれの個々の刊行物が個々に参照により組み入れられているのと同程度に、すべての目的のためにその全体が参照により組み入れられる。本明細書において示される定義が、参照により本明細書に組み入れられる特許、特許出願、公開特許出願および他の刊行物において示される定義と相反するかまたは他の形で矛盾する場合は、本明細書において示される定義が、参照により本明細書に組み入れられる定義に優先する。

【0135】

本明細書において使用するセクション見出しは構成上の目的のためだけであり、記載される主題を限定するものとして解釈してはならない。

【0136】

I. ROR1結合分子

いくつかの局面において、ROR1結合分子、例えばROR1結合ポリペプチドが提供される。かかる結合分子としては、ROR1タンパク質、例えばヒトROR1タンパク質に特異的に結合する抗体（抗原結合断片を含む）が挙げられる。また、該結合分子の中には、かかる抗体を含むポリペプチド、例えば、かかる抗体を含む一本鎖細胞表面タンパク質、例えば組換え受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）がある。いくつかの局面において、ROR1分子に結合するROR1結合細胞表面タンパク質、例えば組換え受容体またはキメラ抗原受容体（CAR）およびROR1に結合する細胞表面タンパク質、例えば組換え受容体（例えば、CAR）をコードするポリヌクレオチドならびにかかる受容体を発現する細胞が提供される。また、かかる抗体、抗原結合断片および結合分子、例えばセクションI.AまたはI.Dに記載のものの全部または一部分をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドが提供される。かかるポリヌクレオチドの例示としてはセクションI.Eに記載のものが挙げられる。いくつかの局面において、当該ポリヌクレオチドが細胞内に導入されて、提供される結合分子（例えば、ROR1に結合する抗体、抗原結合ドメイン、および受容体、例えばCAR）を含むかまたは発現する改変細胞が生成され得る。

【0137】

A. ROR1を標的とする抗体

抗ROR1ポリペプチド、例えば抗体および機能性抗原結合断片が提供される。ROR1結合ポリペプチドの中には、抗体、例えば一本鎖抗体（例えば、抗原結合抗体断片）、例えば重鎖可変（V_H）領域および/または軽鎖可変（V_L）領域を含むもの、またはその一部分がある。いくつかの態様において、抗体または抗原結合断片はV_HとV_Lを含むもの、例えば単鎖Fv断片（scFv）である。抗体は、ROR1、例えばヒトROR1に特異的に結合する抗体を含む。提供される抗ROR1抗体の中には、ヒト抗体またはヒト抗体の改変型もしくはバリエーションである、抗体がある。抗体は、単離された抗体を含む。また、かかる抗体を含むROR1結合分子、例えば一本鎖タンパク質、融合タンパク質、コンジュゲートおよび/または組換え受容体、例えばキメラ受容体、例えば抗原受容体が提供される。いくつかの局面において、ROR1結合分子は単離された分子を含む。

【0138】

また、ROR1結合細胞表面タンパク質、例えばROR1結合組換え受容体が提供される。ROR1結合細胞表面タンパク質には、ROR1、例えばROR1タンパク質、例えばヒトROR1タンパク質に特異的に結合する提供される抗体（例えば、抗原結合抗体断片）が含有され得る。いくつかの局面において、提供される結合分子は、ROR1の細胞外部分に結合する。いくつかの例において、組換え受容体はキメラ抗原受容体、例えば抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含むものである。

【0139】

また、かかる抗体、抗原結合断片および結合分子の全部または一部分をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドが提供される。提供されるポリヌクレオチドは、構築物、例

10

20

30

40

50

例えばデオキシリボ核酸（DNA）構築物またはRNA構築物内に、例えば、コードされているROR1結合抗体、抗原結合断片、コンジュゲートまたは受容体、例えば抗ROR1 CARの発現のために細胞内に導入され得るものに組み込まれ得る。いくつかの局面において、コードされている抗体、抗原結合断片、コンジュゲートおよび受容体、例えばROR1結合ポリペプチドを含むもの、ならびにその組成物および製造物品および使用もまた提供される。

【0140】

本明細書における用語「抗体」は、最も広い意味で使用しており、ポリクローナル抗体ならびにモノクローナル抗体、例えばインタクトな抗体および機能性（抗原結合）抗体断片、例えば抗原結合断片（fragment antigen binding）（Fab）断片、F（ab'）₂断片、Fab'断片、Fv断片、組換えIgG（rIgG）断片、抗原に特異的に結合することができる重鎖可変（V_H）領域、一本鎖抗体断片、例えば一本鎖可変断片（scFv）およびシングルドメイン抗体（例えば、sdAb、sdFv、ナノボディ）断片を含む。この用語は、遺伝子改変および/または他の方法で改変された形態の免疫グロブリン、例えばイントラボディ、ペプチボディ、キメラ抗体、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、ならびにヘテロコンジュゲート抗体、多重特異性、例えば二重特異または三重特異性抗体、ダイアボディ、トリアボディおよびテトラボディ、タンデムジ-scFv、タンデムトリ-scFvを包含している。特に記載のない限り、用語「抗体」は、本明細書において「抗原結合断片」とも称するその機能性抗体断片を包含していると理解されたい。この用語はまた、インタクトな、または完全長の抗体、例えば、いずれかのクラスまたはサブクラスの抗体、例えばIgGおよびそのサブクラス、IgM、IgE、IgAならびにIgDも包含している。

【0141】

「超可変領域」または「HVR」と同義の用語「相補性決定領域」および「CDR」は、抗原特異性および/または結合親和性を付与する抗体可変領域内の非連続アミノ酸配列を示すことが公知である。一般に、各重鎖可変領域に3つのCDR（CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3）および各軽鎖可変領域に3つのCDR（CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3）が存在する。「フレームワーク領域」および「FR」は、重鎖および軽鎖の可変領域の非CDR部分を示すことが公知である。一般に、完全長の各重鎖可変領域に4つのFR（FR-H1、FR-H2、FR-H3およびFR-H4）ならびに完全長の各軽鎖可変領域に4つのFR（FR-L1、FR-L2、FR-L3およびFR-L4）が存在する。

【0142】

所与のCDRまたはFRの厳密なアミノ酸配列の境界は、いくつかの周知のスキームのいずれか、例えば、Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD ("Kabat"ナンバリングスキーム) ; Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948 ("Chothia"ナンバリングスキーム) ; MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography," J. Mol. Biol. 262, 732-745." ("Contact"ナンバリングスキーム) ; Lefranc MP et al., "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," Dev Comp Immunol, 2003 Jan; 27 (1): 55-77 ("IMGT"ナンバリングスキーム) ; Honegger A and Plueckhthun A, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domain: an automatic modeling and analysis tool," J Mol Biol, 2001 Jun 8; 309 (3): 657-70, ("Aho"ナンバリングスキーム) ; Martin et al., "Modeling antibody hyper variable loops: a combined algorithm," PNAS, 1989, 86 (23): 9268-9272 ("AbM"ナンバリングスキーム) ; およびYe et al., "IgBLAST: an immunoglobulin variable domain sequence analysis tool," Nucleic Acids Res. 2013 Jul; 41 (Web Server issue): W34-40 ("IgBLAST"ナンバリングスキーム) に記載のものを用いて容易に決定され得る。

【0143】

所与のCDRまたはFRの境界は、同定のために使用されるスキームによって異なり得る。

例えば、Kabatスキームは構造アラインメントに基づいているが、Chothiaスキームは構造情報に基づいている。KabatとChothiaの両方のスキームでのナンバリングは最も一般的な抗体領域配列の長さに基づいており、いくつかの抗体には、挿入文字、例えば“30a”によって対応される挿入および欠失がみられる。この2つのスキームでは特定の挿入および欠失（「インデル」）が異なる位置に配置され、ナンバリングの違いが生じる。Contactスキームは複雑な結晶構造の解析に基づいており、多くの点でChothiaナンバリングスキームと類似している。AbMスキームは、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用されるものに基づいたKabatの定義とChothiaの定義の折衷法である。IgBLASTスキームは、生殖系列に由来するV、D、およびJ遺伝子とのマッチングに基づいており、米国立生物工学情報センター（NCBI）のIgBLASTツールを用いて確定され得る。

10

【0144】

以下の表1に、それぞれKabat、Chothia、AbMおよびContactスキームによって同定されるCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の例示的な境界の位置を列記する。CDR-H1については、残基ナンバリングをKabatとChothiaの両方のナンバリングスキームを用いて列記する。FRはCDR間に位置し、例えばFR-L1はCDR-L1の前に位置し、FR-L2はCDR-L1とCDR-L2の間に位置し、FR-L3はCDR-L2とCDR-L3の間に位置するなどである。示したKabatナンバリングスキームではH35AとH35Bに挿入が配置されるため、示したKabatナンバリング表示法を用いてナンバリングしたときのChothia CDR-H1ループの終点はこのループの長さに応じてH32とH34の間で異なることに注意されたい。

20

【0145】

（表1）種々のナンバリングスキームによるCDRの境界

CDR	Kabat	Chothia	AbM	Contact
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (Kabat ナンバリング)	H31--H35B	H26--H32.34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (Chothia ナンバリング)	H31--H35	H26--H32	H26--H35	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H50--H58	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

30

1 - Kabat *et al.* (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948

【0146】

したがって、特に指定のない限り、所与の抗体またはその領域、例えばその可変領域の「CDR」もしくは「相補性決定領域」または明示された個々のCDR（例えば、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3）は、前述のスキームのいずれかまたは他の公知のスキームによって定義される相補性決定領域（または特定の該領域）を包含していると理解されたい。例えば、特定のCDR（例えば、CDR-H3）が所与のV_H領域またはV_L領域のアミノ酸配列における対応するCDRのアミノ酸配列を含むと記載されている場合、かかるCDRは、前述のスキームのいずれかまたは他の公知のスキームによって定義される可変領域における対応する該CDR（例えば、CDR-H3）の配列を有すると理解されたい。いくつかの態様では、具体的なCDR配列を明示している。提供される抗体の例示的なCDR配列を種々のナンバリングスキームを用いて記載している（例えば、表2参照）が、提供される抗体は、前述のその他のナンバリングスキームのいずれかまたは他の公知のナンバリングスキームに従って記載されるCDRを含むものであってもよいことを理解されたい。

40

【0147】

50

同様に、特に指定のない限り、所与の抗体またはその領域、例えばその可変領域のFRまたは明示された個々のFR（例えば、FR-H1、FR-H2、FR-H3、FR-H4）は、公知のスキームのいずれかによって定義されるフレームワーク領域（または特定のフレームワーク領域）を包含していると理解されたい。いくつかの場合では、Kabat、Chothia、AbM、IgBLAST、IMGTもしくはContact法または他の公知のスキームによって定義されるCDRなどのように特定の1つのCDR、FRまたは複数のFRもしくはCDRの同定のスキームが明示される。他の場合では、CDRまたはFRの具体的なアミノ酸配列が示される。

【0148】

用語「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体の抗原への結合に関与する抗体重鎖または抗体軽鎖のドメインを示す。天然状態の抗体の重鎖および軽鎖の可変領域（それぞれ、 V_H および V_L ）は概ね類似した構造を有し、各ドメインは4つの保存されたフレームワーク領域（FR）と3つのCDRを含む。（例えば、Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W. H. Freeman and Co., page 91 (2007) 参照。単一の V_H ドメインまたは V_L ドメインは抗原結合特異性を付与するのに充分であり得る。さらに、特定の抗原に結合する抗体は、該抗原に結合する抗体に由来する V_H ドメインまたは V_L ドメインを用いて単離され、それぞれ相補的な V_L ドメインまたは V_H ドメインのライブラリーがスクリーニングされ得る。例えば、Portolano et al., J. Immunol. 150: 880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352: 624-628 (1991)を参照のこと。

【0149】

提供される抗体の中には、抗体断片がある。「抗体断片」または「抗原結合断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原に結合する該インタクトな抗体の一部分を含む、インタクトな抗体以外の分子を示す。抗体断片の例としては、非限定的にFv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；ダイアボディ；線状抗体；重鎖可変（ V_H ）領域、一本鎖抗体分子、例えばscFvおよび V_H 領域のみを含むシングルドメイン抗体；ならびに抗体断片から形成された多重特異性抗体が挙げられる。いくつかの態様において、抗体は、重鎖可変（ V_H ）および軽鎖可変（ V_L ）領域を含む抗体断片であるか、またはそれを含む。特定の態様において、抗体は、重鎖可変（ V_H ）領域および/または軽鎖可変（ V_L ）領域を含む一本鎖抗体断片、例えばscFvである。

【0150】

シングルドメイン抗体（sdAb）は、抗体の重鎖可変領域の全部もしくは一部分または軽鎖可変領域の全部もしくは一部分を含む抗体断片である。一部の特定の態様において、シングルドメイン抗体はヒトシングルドメイン抗体である。

【0151】

抗体断片は、種々の手法、例えば非限定的に、インタクトな抗体のタンパク質分解性消化ならびに組換え宿主細胞による産生によって作製され得る。いくつかの態様において、抗体は組換え産生断片、例えば天然に存在しない構成を含む断片、例えば、合成リンカー、例えばペプチドリリンカーによって連結された2つまたはそれ以上の抗体領域または抗体鎖を有するもの、および/または天然に存在しているインタクトな抗体の酵素消化では生成し得ない構成を含む断片である。いくつかの局面において、抗体断片はscFvである。

【0152】

「ヒト化」抗体は、全部もしくは実質的に全部のCDRアミノ酸残基が非ヒトCDRに由来し、全部もしくは実質的に全部のFRアミノ酸残基がヒトFRに由来する、抗体である。ヒト化抗体は、任意で、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含み得る。非ヒト抗体の「ヒト化形態」は、典型的にはヒトに対する免疫原性を低減するために、ヒト化が行なわれているが、非ヒト親抗体の特異性および親和性を保持している、非ヒト抗体のバリエーションを示す。いくつかの態様において、ヒト化抗体におけるいくつかのFR残基は、例えば抗体の特異性または親和性を回復または改善するために、非ヒト抗体（例えば、CDR残基が由来する抗体）に由来する対応する残基で置換される。

【0153】

提供される抗ROR1抗体の中には、ヒト抗体がある。「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒ

10

20

30

40

50

ト細胞によって、またはヒト抗体レパートリーもしくは他のヒト抗体コード配列が利用される非ヒト供給源、例えばヒト抗体ライブラリーによって産生される抗体のものに対応するアミノ酸配列を有する抗体である。この用語は、非ヒト抗原結合領域を含む非ヒト抗体のヒト化形態、例えば全部もしくは実質的に全部のCDRがヒトのものではないものを除外する。この用語は、ヒト抗体の抗原結合断片を包含する。

【0154】

ヒト抗体は、免疫原を、抗原刺激に応答してインタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を有するインタクトな抗体を産生するように改良されたトランスジェニック動物に投与することにより調製され得る。かかる動物は典型的には、内在性免疫グロブリン座位と置き換えられるか、または染色体外に存在するか、もしくは該動物の染色体内にランダムに組み込まれるヒト免疫グロブリン座位の全部もしくは一部分を含む。かかるトランスジェニック動物では、内在性免疫グロブリン座位は概して不活性化されている。また、ヒト抗体は、ヒトレパートリーに由来する抗体コード配列を含むヒト抗体ライブラリー、例えばファージディスプレイおよび無細胞ライブラリーに由来するものであってもよい。

【0155】

提供される抗体の中には、モノクローナル抗体断片を含む、モノクローナル抗体がある。本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一系の抗体集団から得られる抗体または実質的に均一系の抗体集団内の抗体を示す、すなわち、該集団を構成する個々の抗体は、天然に存在している変異を含むか、またはモノクローナル抗体調製物の作製中に生じる考えられ得るバリエーション以外は同一であり、かかるバリエーションは概して微量に存在する。典型的には異なるエピトープに対して指向されるいろいろな抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は抗原上の単一のエピトープに対して指向される。この用語は、抗体がなんら特定の方法によって産生されることを必要とすると解釈されるべきでない。モノクローナル抗体は、様々な手法、例えば非限定的に、ハイブリドーマからの生成、組換えDNA法、ファージディスプレイおよび他の抗体ディスプレイ法によって作製され得る。

【0156】

「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを示すために互換的に使用され、最小限の長さに制限はない。ポリペプチド、例えば提供される抗体および抗体鎖ならびに他のペプチド、例えばリンカーおよびROR1結合ペプチドは、天然および/または非天然のアミノ酸残基を含むアミノ酸残基を含み得る。この用語はまた、ポリペプチドの発現後修飾、例えばグリコシル化、シアリル化、アセチル化、リン酸化なども包含する。いくつかの局面において、ポリペプチドは、そのタンパク質が所望の活性を維持している限り、ネイティブまたは天然配列に対する修飾を含んでいてもよい。このような修飾は、部位特異的変異誘発によるような意図的なものであってもよく、例えばタンパク質を産生する宿主の変異またはPCR増幅によるエラーによる偶発的なものであってもよい。

【0157】

1. 例示的な抗体

いくつかの態様において、抗体、例えば抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、記載の通りの重鎖および/もしくは軽鎖の可変(V_H もしくは V_L)領域配列、またはその充分な抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、抗体、例えば抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、記載の通りの重鎖可変領域(V_H)配列および/もしくは軽鎖可変領域(V_L)配列、またはその充分な抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、抗体、例えば抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、一本鎖断片、例えば単鎖Fv(scFv)断片である。いくつかの局面において、scFvは V_H 領域および V_L 領域を含む。いくつかの態様において、抗体、例えば抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、シングルドメイン抗体(sdAb)、例えば V_H 領域のみを含む抗体である。

【0158】

いくつかの態様において、抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、記載の通りの重

10

20

30

40

50

鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、および/もしくは重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3)を含むV_H領域配列、またはその十分な抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、記載の通りのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むV_H領域配列、またはその十分な抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、記載の通りの軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および/もしくは軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3)を含むV_L領域配列、または十分な抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、記載の通りのCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むV_L領域配列、または十分な抗原結合部分を含む。

10

【0159】

いくつかの態様において、抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、記載の通りのCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含むV_H領域配列を含み、かつ記載の通りのCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含むV_L領域配列を含む。いくつかの態様において、抗ROR1抗体、例えば抗原結合抗体断片は、記載の通りのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むV_H領域配列を含み、かつ記載の通りのCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むV_L領域配列を含む。また、提供される抗体およびその断片の中には、かかる配列、例えば本明細書に記載の抗体またはその断片のCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、V_H、V_L、scFv配列、または他の配列のいずれかに対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%同一である、配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも85%または約85%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも86%または約86%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも87%または約87%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも88%または約88%の配列同一性の配列を有するものである。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも89%または約89%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも90%または約90%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも91%または約91%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも92%または約92%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも93%または約93%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも94%または約94%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも95%または約95%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも96%または約96%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも97%または約97%の配列同一性の配列を有するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも98%または約98%の配列同一性の配列を有

20

30

40

50

するものがある。いくつかの局面において、提供される抗体およびその断片の中には、任意のかかる配列に対して少なくとも99%または約99%の配列同一性配列を有するものがある。

【0160】

いくつかの態様において、抗体は、V_H領域配列またはその充分な抗原結合部分、例えば本明細書に記載のV_H配列のいずれか（例えば、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、および/またはCDR-H4）のみを含むsdAbである。いくつかの態様において、該抗体または抗原結合断片は、（V_L領域と対になっていない）V_H領域を含有しかつ/または追加の抗体ドメインも結合部位も含有しないシングルドメイン抗体であって、ROR1に特異的に結合することができるものを含む。

10

【0161】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、KabatナンバリングによるCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、ChothiaナンバリングによるCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、AbMナンバリングによるCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、IgBLASTナンバリングによるCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、Kabat、Chothia、AbM、IMGT、もしくはIgBLASTナンバリング、または他のナンバリングスキームによるCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含む。

20

【0162】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子は、SEQ ID NO:112、121、103、または130に示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変（V_H）領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:112、121、103、または130に示されるV_H領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはかかるV_H配列内に存在する重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）、および/または重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含有し、例えば、かかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含有するV_H領域を有する。いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子は、SEQ ID NO:112または121に示されるアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:112または121に示されるV_H領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはかかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含有し、例えば、かかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含有するV_H領域を有する。

30

40

【0163】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子は、SEQ ID NO:112に示されるアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:112に示されるV_H領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは

50

は約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはかかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含有し、例えば、かかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含有するV_H領域を有する。いくつかの態様において、抗体、例えばその抗原結合断片は、SEQ ID NO:121に示されるアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:121に示されるV_H領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはかかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含有し、例えば、かかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含有するV_H領域を有する。いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子は、SEQ ID NO:103に示されるアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:103に示されるV_H領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはかかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含有し、例えば、かかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含有するV_H領域を有する。いくつかの態様において、抗体、例えばその抗原結合断片は、SEQ ID NO:130に示されるアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:130に示されるV_H領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_H領域を有するか、あるいはかかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含有し、例えば、かかるV_H配列内に存在するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含有するV_H領域を有する。

【0164】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:67、82、または52に示される配列を含むCDR-H1を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:71、86、56、または97に示される配列を含むCDR-H2を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含むCDR-H3を含む。

【0165】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:65、80、または50に示される配列を含むCDR-H1を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:69、84、54、または95に示される配列を含むCDR-H2を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含むCDR-H3を含む。

【0166】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:66、81、ま

たは51に示される配列を含むCDR-H1を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:70、85、55、または96に示される配列を含むCDR-H2を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含むCDR-H3を含む。

【0167】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:68、83、または53に示される配列を含むCDR-H1を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:72、87、57、または98に示される配列を含むCDR-H2を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:74、89、59、または100に示される配列を含むCDR-H3を含む。

10

【0168】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:67、82、または52に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:71、86、56、または97に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含むCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:65、80、または50に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:69、84、54、または95に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含むCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:66、81、または51に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:70、85、55、または96に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含むCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:68、83、または53に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:72、87、57、または98に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:74、89、59、または100に示される配列を含むCDR-H3を含む。

20

【0169】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:67または82に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:71または86に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73または88に示される配列を含むCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:65または80に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:69または84に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73または88に示される配列を含むCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:66または81に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:70または85に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73または88に示される配列を含むCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:68または83に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:72または87に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:74または89に示される配列を含むCDR-H3を含む。

30

40

【0170】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:67、71および73；SEQ ID NO:82、86および88；それぞれSEQ ID NO:52、56および58；またはそれぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-

50

H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:65、69および73；それぞれSEQ ID NO:80、84および88；それぞれSEQ ID NO:50、54および58；またはそれぞれSEQ ID NO:50、95、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:66、70および73；それぞれSEQ ID NO:81、85および88；それぞれSEQ ID NO:51、55および58；またはSEQ ID NO:51、96、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:68、72、および74に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。

【0171】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:65、69、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:66、70、および73に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:68、72、および74に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。

【0172】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:80、84、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:81、85、および88に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:83、87、および89に示される配列を含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。

【0173】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:112、121、103、または130のうちのいずれか1つに示されるV_H領域アミノ酸配列内に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:112または121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。

【0174】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲ

ート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:112に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む。

10

【0175】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、記載の通りのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3のいずれかを含み、SEQ ID NO:112、121、103、または130のうちのいずれか1つに示されるV_H領域アミノ酸配列内に含まれているフレームワーク領域1（FR1）、FR2、FR3、および/またはFR4に対して、それぞれ少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%を有する、FR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112に示されるV_H領域アミノ酸配列内に含まれているFR1、FR2、FR3、および/またはFR4に対して、それぞれ少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%を有する、FR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:121に示されるV_H領域アミノ酸配列内に含まれているFR1、FR2、FR3、および/またはFR4に対して、それぞれ少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%を有する、FR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:103に示されるV_H領域アミノ酸配列内に含まれているFR1、FR2、FR3、および/またはFR4に対して、それぞれ少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%を有する、FR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:130に示されるV_H領域アミノ酸配列内に含まれているFR1、FR2、FR3、および/またはFR4に対して、それぞれ少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%を有する、FR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含む。

20

30

40

【0176】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲ

50

ート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:112、121、103、もしくは130のうちのいずれか1つに示されるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:112に示されるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:121に示されるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:103に示されるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:130に示されるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

10

【0177】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:110、119、101、または128によって、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、もしくは128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:111、120、102、もしくは129によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

20

【0178】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:110または119によって、あるいはSEQ ID NO:110または119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:111もしくは120によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

30

40

【0179】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:110によって、あるいはSEQ ID NO:110に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の

50

同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:111によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0180】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:119によって、あるいはSEQ ID NO:119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:120によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

10

【0181】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:101によって、あるいはSEQ ID NO:101に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:102によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

20

30

【0182】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:128によって、あるいはSEQ ID NO:128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:129によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。また、本明細書に記載のヌクレオチド配列のいずれか（例えば、提供される結合分子の一部分の全部をコードするもの）を含有する、ポリヌクレオチドが提供される。

40

【0183】

いくつかの態様において、提供されるCAR（例えば、抗ROR1 CAR）における抗体または抗体断片は、軽鎖またはその十分な抗原結合部分を含む。例えば、いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖可変（V_L）領域またはV_L領域の十分な抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、V_H領域お

50

よび軽鎖可変（V_L）領域、またはV_H領域およびV_L領域の十分な抗原結合部分を含む。任意のかかる態様において、V_H領域配列は、本明細書に記載のV_H領域配列のいずれかであり得る。任意のかかる態様において、V_L領域配列は、本明細書に記載のV_L領域配列のいずれかであり得る。任意のかかる態様において、本明細書に記載のV_H領域配列のいずれかとV_L領域配列のいずれかの組合せが使用され得る。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、本明細書に記載のCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3の配列のいずれか1つもしくは複数と、本明細書に記載のCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3の配列のいずれか1つもしくは複数との組合せが使用され得る。いくつかのかかる態様において、該抗体は、抗原結合断片、例えばFabまたはscFvである。いくつかの態様において、該抗体または抗原結合断片は、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションをさらに含む。いくつかのかかる態様において、該抗体は、定常領域も含む完全長の抗体である。

【0184】

いくつかの態様において、本明細書において提供される結合分子、例えば受容体、例えばCARは、いずれかのV_L領域またはその十分な抗原結合部分を含む抗体、例えば抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む。例えば、いくつかの態様において、CARは、V_H領域およびV_L領域、またはV_H領域およびV_L領域の十分な抗原結合部分を含む、抗体またはその抗原結合断片を含む。任意のかかる態様において、V_H領域配列は、本明細書に記載のV_H領域配列のいずれかであり得る。任意のかかる態様において、V_L領域配列は、本明細書に記載のV_L領域配列のいずれかであり得る。任意のかかる態様において、本明細書に記載のV_H領域配列のいずれかとV_L領域配列のいずれかとの組合せが使用され得る。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、本明細書に記載のCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3の配列のいずれか1つもしくは複数と、本明細書に記載のCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3の配列のいずれか1つもしくは複数との組合せが使用され得る。いくつかのかかる態様において、提供される組換え受容体に含まれている抗体は、抗原結合断片、例えばFabまたはscFvである。いくつかのかかる態様において、該受容体（例えばCAR）は、例えばセクションI.Bにおいて後述するスペーサー、例えば免疫グロブリン定常領域の一部分またはそのバリエーションをさらに含む。

【0185】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、KabatナンバリングによるCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、ChothiaナンバリングによるCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、AbMナンバリングによるCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、IMGTナンバリングによるCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、IgBLASTナンバリングによるCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含む。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、Kabat、Chothia、AbM、IMGT、もしくはIgBLASTナンバリング、または他のナンバリングスキームによる、CDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含む。

【0186】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子は、SEQ ID NO:115、124、または106に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変（V_L）領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:115、124、または106に示されるV_L領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配

10

20

30

40

50

列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_L領域を有するか、あるいはかかるV_L配列内に存在する軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および/または軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) を含有し、例えば、かかるV_L配列内に存在するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含有するV_L配列を有する。いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体 (例えばCAR)、コンジュゲート、または結合分子は、SEQ ID NO:115または124に示されるアミノ酸配列を有するV_L領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:115または124に示されるV_L領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_L領域を有するか、あるいはかかるV_L配列内に存在するCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含有し、例えば、かかるV_L配列内に存在するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含有するV_L配列を有する。

【0187】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体 (例えばCAR)、コンジュゲート、または結合分子は、SEQ ID NO:115に示されるアミノ酸配列を有するV_L領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:115に示されるV_L領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_L領域を有するか、あるいはかかるV_L配列内に存在するCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含有し、例えば、かかるV_L配列内に存在するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含有するV_L配列を有する。いくつかの態様において、該抗体、例えばその抗原結合断片は、SEQ ID NO:124に示されるアミノ酸配列を有するV_L領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:124に示されるV_L領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_L領域を有するか、あるいはかかるV_L配列内に存在するCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含有し、例えば、かかるV_L配列内に存在するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含有するV_L配列を有する。いくつかの態様において、抗体、例えばその抗原結合断片は、SEQ ID NO:106に示されるアミノ酸配列を有するV_L領域を有するか、あるいはSEQ ID NO:106に示されるV_L領域アミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するV_L領域を有するか、あるいはかかるV_L配列内に存在するCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含有し、例えば、かかるV_L配列内に存在するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含有するV_L配列を有する。

【0188】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO:75、90、または60に示される配列を含むCDR-L1を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO:77、92、または62に示される配列を含むCDR-L2を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO:79、94、ま

たは64に示される配列を含むCDR-L3を含む。

【0189】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO:76、91、または61に示される配列を含むCDR-L1を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO:78、93、または63に示される配列を含むCDR-L2を含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO:79、94、または64に示される配列を含むCDR-L3を含む。

【0190】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:75、90、または60に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77、92、または62に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79、94、または64に示される配列を含むCDR-L3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:76、91、または61に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:78、93、または63に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79、94、または64に示される配列を含むCDR-L3を含む。

【0191】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:75または90に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77または92に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79または94に示される配列を含むCDR-L3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:76または91に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:78または93に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79または94に示される配列を含むCDR-L3を含む。

【0192】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:75、77および79；SEQ ID NO:90、92および94；それぞれSEQ ID NO:60、62および64；またはそれぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:76、78および79；それぞれSEQ ID NO:91、93および94；それぞれSEQ ID NO:60、63および64；またはそれぞれSEQ ID NO:61、63、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0193】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:76、78、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0194】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、それぞれSEQ ID NO:91、93、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0195】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:115、124、または106のうちのいずれか1つに示されるV_L領域アミノ酸配列内に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:115または124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0196】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:115に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0197】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、記載の通りのCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3のいずれかを含み、かつ、SEQ ID NO:115、124、または106のうちのいずれか1つに示されるV_L領域アミノ酸配列内に含まれている、それぞれフレームワーク領域1（FR1）、FR2、FR3、および/またはFR4に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%を有する、FR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO:115に示されるV_L領域アミノ酸配列内に含まれている、それぞれFR1、FR2、FR3、および/またはFR4に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%を有する、FR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO:124に示されるV_L領域アミノ酸配列内に含まれている、それぞれFR1、FR2、FR3、および/またはFR4に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%を有する、FR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO:106に示されるV_L領域アミノ酸配列内に含まれている、それぞれFR1、FR2、FR3、および/またはFR4に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%を有する、FR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含む。

【0198】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:115、124、または106のうちのいずれか1つに示されるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:115に示されるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:124に示されるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:106に示されるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。

10

【0199】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:113、122、または104によって、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:114、123、105、もしくは131によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

20

【0200】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:113または122によって、あるいはSEQ ID NO:113または122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:114もしくは123によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

30

【0201】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:113によって、あるいはSEQ ID NO:113に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュ

40

50

ゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:114によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0202】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:122によって、あるいはSEQ ID NO:122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:123によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

10

【0203】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:104によって、あるいはSEQ ID NO:104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:105によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_L領域は、SEQ ID NO:131によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

20

30

【0204】

いくつかの態様において、該抗体または抗原結合断片は、重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む、scFvである。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:112、121、103、または130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:115、124、または106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:112または121に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%も

40

50

しくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:115または124に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。

【0205】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む；V_H領域は、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む；V_H領域は、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む；あるいはV_H領域は、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%も

10

20

30

40

50

しくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。

【0206】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%も

10

20

30

40

50

しくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。

【0207】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片のV_H領域は、SEQ ID NO:112、121、103、または130のうちのいずれか1つから選択されるV_H領域アミノ酸配列内に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3を含み；SEQ ID NO:115、124、または106のうちのいずれか1つから選択されるV_L領域アミノ酸配列内に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112または121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、SEQ ID NO:115または124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0208】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:112に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、SEQ ID NO:115に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、SEQ ID NO:124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_L領域は、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0209】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:67、82、または52に示される配列を含む重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、SEQ ID NO:71、86、56、または97に示される配列を含む重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）、およびSEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含む重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:75、90、または60に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、SEQ ID NO:77、92、または62に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域2（CDR-L2）、およびSEQ ID NO:79、94、または64に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域3（CDR-L3）を含む。

【0210】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:65、80、または50に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:69、84、54、または95に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:75、90、または60に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77、92、または62に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79、94、または64に示される配列を含むCDR-L3を含む；あるいは

【0211】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:66、81、または51に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:70、85、55、または96に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含む

CDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:75、90、または60に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77、92、または62に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79、94、または64に示される配列を含むCDR-L3を含む；あるいは

【0212】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:68、83、または53に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:72、87、57、または98に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:74、89、59、または100に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:76、91、または61に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:78、93、または63に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79、94、または64に示される配列を含むCDR-L3を含む。

10

【0213】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:67または82に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:71または86に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73または88に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:75または90に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77または92に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79または94に示される配列を含むCDR-L3を含む。

20

【0214】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:65または80に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:69または84に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73または88に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:75または90に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77または92に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79または94に示される配列を含むCDR-L3を含む。

【0215】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:66または81に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:70または85に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:73または88に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:75または90に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:77または92に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79または94に示される配列を含むCDR-L3を含む。

30

【0216】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:68または83に示される配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:72または87に示される配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:74または89に示される配列を含むCDR-H3を含み、かつV_L領域は、SEQ ID NO:76または91に示される配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO:78または93に示される配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO:79または94に示される配列を含むCDR-L3を含む。

40

【0217】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）、および重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、軽鎖相補性決定領域2（CDR-L2）および軽鎖相補性決定領域3（CDR-L3）

50

を含むか；V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；またはV_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0218】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:65、69、および73に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:80、84、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:50、54、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；またはV_H領域が、それぞれSEQ ID NO:50、95、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0219】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:66、70、および73に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:81、85、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:51、55、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；またはV_H領域が、それぞれSEQ ID NO:51、96、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0220】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:68、72、および74に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:76、78、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；またはV_H領域が、それぞれSEQ ID NO:83、87、および89に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:91、93、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:53、57、および59に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、63、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；またはV_H領域が、それぞれSEQ ID NO:53、98、および100に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域が、それぞれSEQ ID

NO:61、63、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0221】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0222】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:65、69、および73に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0223】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:66、70、および73に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0224】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:68、72、および74に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:76、78、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0225】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0226】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:80、84、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0227】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:81、85、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0228】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:83、87、および89に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:91、93、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

10

20

30

40

50

【0229】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0230】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:50、54、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

10

【0231】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:51、55、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0232】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:53、57、および59に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:60、63、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

20

【0233】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

30

【0234】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:50、95、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0235】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:51、96、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

40

【0236】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、それぞれSEQ ID NO:53、98、および100に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:61、63、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む。

【0237】

いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片、受容体、例えばCAR、コン

50

ジユゲートまたは結合分子のV_H領域は、SEQ ID NO:112、121、103、または130のアミノ酸配列を含み、該抗体または抗原結合断片のV_L領域は、アミノ酸配列115、124または106を含む。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片、受容体、例えばCAR、コンジュゲートまたは結合分子のV_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:112および115；それぞれSEQ ID NO:121および124；それぞれSEQ ID NO:103および106；またはそれぞれSEQ ID NO:130および106のアミノ酸配列を含むか、あるいは上記のいずれかのV_HおよびV_Lに対して少なくとも90%または約90%の配列同一性、例えば、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有する任意の抗体またはその抗原結合断片を含む。例えば、本明細書において提供される抗体またはその抗原結合断片のV_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:112および115；SEQ ID NO:121および124；SEQ ID NO:103および106；またはSEQ ID NO:130および106から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0238】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、またはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、またはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、またはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域およびV_L領域は、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、またはそれを含む。

【0239】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:110、119、101、または128によって、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、もしくは128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:113、122、または104によって、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:111、120、102、もしくは129によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:114、123、105、もしくは131によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0240】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:110または119によって、あるいはSEQ ID NO:110または119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:113または122によって、あるいはSEQ ID NO:113または122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:111もしくは120によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:114もしくは123によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0241】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:110によって、あるいはSEQ ID NO:110に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:113によって、あるいはSEQ ID NO:113に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:111によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:114によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0242】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:119によって、あるいはSEQ ID NO:119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、

89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:122によって、あるいはSEQ ID NO:122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:120によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:123によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0243】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:101によって、あるいはSEQ ID NO:101に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:104によって、あるいはSEQ ID NO:104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:102によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:105によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0244】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:128によって、あるいはSEQ ID NO:128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:104によって、あるいはSEQ ID NO:104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは

は約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO:129によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、V_L領域は、SEQ ID NO:131によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

10

【0245】

いくつかの態様において、提供されるCARにおける抗体またはその抗原結合断片は一本鎖抗体断片、例えば一本鎖可変断片（scFv）またはダイアボディまたはシングルドメイン抗体（sdAb）である。いくつかの態様において、該抗体または抗原結合断片はマルチドメイン抗体、例えば重鎖可変（V_H）領域と軽鎖可変（V_L）領域を含むscFvである。いくつかの態様において、一本鎖抗体断片（例えば、scFv）は、2つの抗体ドメインまたは領域、例えば重鎖可変（V_H）領域と軽鎖可変（V_L）領域を連結している1つまたは複数のリンカーを含む。リンカーは典型的にはペプチドリンカー、例えばフレキシブルおよび/または可溶性ペプチドリンカーである。リンカーの中には、グリシンおよびセリンに富むもの、ならびに/またはいくつかの場合ではトレオニンに富むものがある。いくつかの態様において、リンカーは、可溶性を改善し得る荷電残基、例えばリシンおよび/またはグルタミン酸をさらに含む。いくつかの態様において、リンカーは1つまたは複数のプロリンをさらに含む。

20

【0246】

したがって、提供されるCARは、典型的には2つの抗体ドメインまたは領域、かかるV_H領域とV_L領域を連結しているリンカーを含む一本鎖抗体断片、例えばscFvおよびダイアボディ、特にヒト一本鎖抗体断片を含む抗ROR1抗体を含む。リンカーは典型的にはペプチドリンカー、例えばフレキシブルおよび/または可溶性ペプチドリンカー、例えばグリシンおよびセリンに富むものである。

【0247】

いくつかの局面において、グリシンおよびセリン（ならびに/またはトレオニン）に富むリンカーは、少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%のかかるアミノ酸を含む。いくつかの態様において、これは、少なくとも50%もしくは約50%、55%もしくは約55%、60%もしくは約60%、70%もしくは約70%、または75%もしくは約75%のグリシン、セリン、および/またはトレオニンを含む。いくつかの態様において、リンカーは、実質的に完全にグリシン、セリン、および/またはトレオニンで構成されている。リンカーは、概して約5～約50アミノ酸長、典型的には10または約10アミノ酸長～30または約30アミノ酸長、例えば、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30アミノ酸長であり、いくつかの例では10～25アミノ酸長である。例示的なリンカーとしては、配列GGGGS（4GS；SEQ ID NO:39）またはGGGS（3GS；SEQ ID NO:40）の種々の回数の反復配列、例えば、かかる配列の2、3、4から5回の反復配列を有するリンカーが挙げられる。例示的なリンカーとしては、SEQ ID NO:41（GGGSGGGSGGGGS）

30

40

に示される配列を有するもの、または該配列からなるものが挙げられる。例示的なリンカーとしては、SEQ ID NO:24（GSTSGSGKPGSGEGSTKG）

に示される配列を有するもの、または該配列からなるものがさらに挙げられる。例示的な

50

リンカーとしては、
SEQ ID NO: 162 (SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA)

に示される配列を有するもの、または該配列からなるものがさらに挙げられる。例示的な一例のリンカーとしては、
SEQ ID NO: 163 (GSRGGGSGGGGSGGGGSLEMA)

に示される配列を有するもの、または該配列からなるものが挙げられる。

【0248】

したがって、いくつかの態様において、提供される態様は、1つまたは複数の前述のリンカー、例えばグリシンおよびセリンに富むリンカー、例えばGGGS (SEQ ID NO:40) またはGGGGS (SEQ ID NO:39) の反復配列を有するリンカー、例えばSEQ ID NO:41、162、または163に示されるリンカーを含む、一本鎖抗体断片、例えばscFvを含む。

【0249】

いくつかの態様において、V_H領域はV_L領域に対してアミノ末端側であり得る。いくつかの態様において、V_H領域はV_L領域に対してカルボキシ末端側であり得る。特定の態様において、該断片、例えばscFvは、V_H領域またはその一部分、続いてリンカー、続いてV_L領域またはその一部分を含み得る。他の態様において、該断片、例えばscFvは、V_L領域またはその一部分、続いてリンカー、続いてV_H領域またはその一部分を含み得る。

【0250】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:118、127、109、もしくは134に示される配列、あるいはSEQ ID NO:118、127、109、もしくは134に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:118または127に示される配列、あるいはSEQ ID NO:118または127に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:118に示される配列であるか、またはそれを含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:127に示される配列であるか、またはそれを含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:109に示される配列であるか、またはそれを含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:134に示される配列であるか、またはそれを含む。

【0251】

本明細書において提供される抗体、抗原結合断片、受容体（例えばCAR）、コンジュゲート、または結合分子のいくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:116、125、107、または132によって、あるいはSEQ ID NO:116、125、107、または132に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは

は約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:117、126、108、もしくは133によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0252】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、scFvは、SEQ ID NO:116または125によって、あるいはSEQ ID NO:116または125に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:117もしくは126によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:117によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:126によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:108によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:133によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む

【0253】

表2は、提供する例示的な抗体断片、例えばscFvのSEQ ID NO:を示す。いくつかの局面において、提供する例示的な抗体断片は、提供されるROR1結合受容体、例えば抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）内に含まれ得る。いくつかの態様において、ROR1結合抗体またはその断片、例えばscFvは、以下の表2の各行に列記したSEQ ID NO:（Kabat、Chothia、AbMおよびIgBLASTナンバリングスキームによる）に示されるCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3の配列を含むV_H領域ならびにCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列を含むV_L領域を含む。いくつかの態様において、ROR1結合抗体またはその断片、例えばscFvは、以下の表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるV_H領域配列およびV_L領域配列または以下の表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるV_H領域配列およびV_L領域配列に対して、少なくとも、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するV_H領域およびV_L領域のアミノ酸配列を含む抗体を含む。いくつかの態様において、ROR1結合抗体またはその断片、例えばscFvは、以下の表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるV_H領域配列およびV_L領域配列を含む。いくつかの態様において、ROR1結合抗体またはその断片は、以下の表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるscFv配列あるいは以下の表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるscFv配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するscFvのアミノ酸配列を含む抗体を含む。いくつかの態様において、ROR1結合抗体またはその断片は以下の表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるscFv配列を含む。いくつかの態様において、表2の各行に列記した抗体またはその抗原結合断片、例えばscFvのいずれかが、受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）内に例えば細胞外抗原結合ドメインとして含まれ得る。

【0254】

いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片はV_H領域およびV_L領域を含み、該抗体またはその抗原結合断片の該V_H領域が、表2に示されるCDR-H1、CD

R-H2、およびCDR-H3のアミノ酸配列のいずれかの組合せを含み得、該抗体またはその抗原結合断片の該V_L領域が、表2に示されるCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3のアミノ酸配列のいずれかの組合せを含み得る。いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片は、表2に示されるV_H領域および/またはV_L領域を任意の組合せ、向きまたは異なるリンカー含有状態で含む。いくつかの局面において、該抗体またはその抗原結合断片は表2に記載のV_H領域を含む。いくつかの局面において、該抗体またはその抗原結合断片は表2に記載のV_L領域を含む。いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片は、表2に示されるV_H領域または表2に示されるV_L領域を含むシングルドメイン抗体（sdAb）である。いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片は、表2に示されるCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を含むV_H領域あるいは表2に示されるCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含むV_L領域を含むシングルドメイン抗体（sdAb）である。

【0255】

（表2）例示的なscFvの配列番号（SEQ ID NO）

scFv	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3	V _H	V _L	リンカー	順序	scFv
	Kabat			Kabat							
ROR1-1	67	71	73	75	77	79	112	115	41	V _H -V _L	118
ROR1-2	82	86	88	90	92	94	121	124	41	V _H -V _L	127
ROR1-3	52	56	58	60	62	64	103	106	41	V _H -V _L	109
ROR1-4	52	97	99	60	62	64	130	106	41	V _H -V _L	134
	Chothia			Chothia							
ROR1-1	65	69	73	75	77	79	112	115	41	V _H -V _L	118
ROR1-2	80	84	88	90	92	94	121	124	41	V _H -V _L	127
ROR1-3	50	54	58	60	62	64	103	106	41	V _H -V _L	109
ROR1-4	50	95	99	60	62	64	130	106	41	V _H -V _L	134
	AbM			AbM							
ROR1-1	66	70	73	75	77	79	112	115	41	V _H -V _L	118
ROR1-2	81	85	88	90	92	94	121	124	41	V _H -V _L	127
ROR1-3	51	55	58	60	62	64	103	106	41	V _H -V _L	109
ROR1-4	51	96	99	60	62	64	130	106	41	V _H -V _L	134
	IgBLAST			IgBLAST							
ROR1-1	68	72	74	76	78	79	112	115	41	V _H -V _L	118
ROR1-2	83	87	89	91	93	94	121	124	41	V _H -V _L	127
ROR1-3	53	57	59	61	63	64	103	106	41	V _H -V _L	109
ROR1-4	53	98	100	61	63	64	130	106	41	V _H -V _L	134

【0256】

提供される抗体、例えば抗原結合断片の中には、ヒト抗体がある。提供されるヒト抗ROR1抗体、例えば抗原結合断片のいくつかの態様において、該ヒト抗体は、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドDセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分、および/またはヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドJセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分を含む、V_H領域を含み；かつ/または、ヒトκ鎖もしくはλ鎖の生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分、および/またはヒトκ鎖もしくはλ鎖の生殖系列由来ヌクレオチドJセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分を含む、V_L領域を含む。

【0257】

提供される抗体、例えば抗原結合断片の中には、ヒト抗体がある。提供されるヒト抗RO R1抗体、例えば抗原結合断片のいくつかの態様において、該ヒト抗体は、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドDセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分、および/またはヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドJセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分を含む、V_H領域を含み；かつヒトかつ鎖もしくはλ鎖の生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分、および/またはヒトかつ鎖もしくはλ鎖の生殖系列由来ヌクレオチドJセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有する部分を含む、V_L領域を含む。いくつかの態様において、V_H領域の該部分は、CDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3に相当する。いくつかの態様において、V_H領域の該部分は、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3に相当する。いくつかの態様において、V_H領域の該部分は、フレームワーク領域1（FR1）、FR2、FR2、および/またはFR4に相当する。いくつかの態様において、V_L領域の該部分は、CDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3に相当する。いくつかの態様において、V_L領域の該部分は、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3に相当する。いくつかの態様において、V_L領域の該部分は、FR1、FR2、FR2および/またはFR4に相当する。

【0258】

いくつかの態様において、ヒト抗体またはその抗原結合断片は、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-H1領域のアミノ酸配列に対して、少なくとも、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、CDR-H1を含む。例えば、いくつかの態様におけるヒト抗体は、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-H1領域と比べて100%同一であるか、あるいはアミノ酸の違いが1個以下、2個以下、または3個以下である配列を有する、CDR-H1を含む。

【0259】

いくつかの態様において、ヒト抗体またはその抗原結合断片は、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-H2領域のアミノ酸配列に対して、少なくとも、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、CDR-H2を含む。例えば、いくつかの態様におけるヒト抗体は、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-H2領域と比べて100%同一であるか、あるいはアミノ酸の違いが1個以下、2個以下、または3個以下である配列を有する、CDR-H2を含む。

【0260】

いくつかの態様において、ヒト抗体またはその抗原結合断片は、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメント、Dセグメント、およびJセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-H3領域のアミノ酸配列に対して、少なくとも、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、CDR-H3を含む。例えば、いくつかの態様におけるヒト抗体は、ヒト重鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメント、Dセグメント、およびJセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-H3領域と比べて100%同一であるか、あるいはアミノ酸の違いが1個以下、2個以下、または3個以下である配列を有する、CDR-H3を含む。

【0261】

いくつかの態様において、ヒト抗体またはその抗原結合断片は、ヒト軽鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-L1領域のアミノ酸配列に対して、少なくとも、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配

列同一性を有する、CDR-L1を含む。例えば、いくつかの態様におけるヒト抗体は、ヒト軽鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-L1領域と比べて100%同一であるか、あるいはアミノ酸の違いが1個以下、2個以下、または3個以下である配列を有する、CDR-L1を含む。

【0262】

いくつかの態様において、ヒト抗体またはその抗原結合断片は、ヒト軽鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-L2領域のアミノ酸配列に対して、少なくとも、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、CDR-L2を含む。例えば、いくつかの態様におけるヒト抗体は、ヒト軽鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-L2領域と比べて100%同一であるか、あるいはアミノ酸の違いが1個以下、2個以下、または3個以下である配列を有する、CDR-L2を含む。

10

【0263】

いくつかの態様において、ヒト抗体またはその抗原結合断片は、ヒト軽鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントおよびJセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-L3領域のアミノ酸配列に対して、少なくとも、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、CDR-L3を含む。例えば、いくつかの態様におけるヒト抗体は、ヒト軽鎖生殖系列由来ヌクレオチドVセグメントおよびJセグメントによってコードされる配列における対応するCDR-L3領域と比べて100%同一であるか、あるいはアミノ酸の違いが1個以下、2個以下、または3個以下である配列を有する、CDR-L3を含む。

20

【0264】

いくつかの態様において、ヒト抗体またはその抗原結合断片は、ヒト生殖系列由来遺伝子セグメント配列を含むフレームワーク領域を含む。例えば、いくつかの態様において、ヒト抗体は、フレームワーク領域、例えばFR1、FR2、FR3、およびFR4が、ヒト生殖系列に由来する抗体セグメント、例えばVセグメントおよび/またはJセグメントによってコードされるフレームワーク領域に対して、少なくとも、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、V_H領域を含む。いくつかの態様において、ヒト抗体は、フレームワーク領域、例えばFR1、FR2、FR3、およびFR4が、ヒト生殖系列に由来する抗体セグメント、例えばVセグメントおよび/またはJセグメントによってコードされるフレームワーク領域に対して、少なくとも、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、V_L領域を含む。例えば、いくつかのかかる態様において、V_H領域および/またはV_L領域内に含まれているフレームワーク領域配列は、ヒト生殖系列に由来する抗体セグメントによってコードされるフレームワーク領域配列と比べて10個以下のアミノ酸、例えば9個以下、8個以下、7個以下、6個以下、5個以下、4個以下、3個以下、2個以下、または1個以下のアミノ酸が異なる。

30

【0265】

前記抗体またはその抗原結合断片は、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分、例えば1つまたは複数の定常領域ドメインを含み得る。いくつかの態様において、定常領域は、軽鎖定常領域および/または重鎖定常領域1 (C_H1) を含む。いくつかの態様において、該抗体は、ヒンジ領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む。いくつかの態様において、該抗体は、C_H2および/またはC_H3ドメイン、例えばFc領域を含む。いくつかの態様において、Fc領域は、ヒトIgG (例えばIgG1またはIgG4) のFc領域である。

40

【0266】

2. 例示的な特徴

いくつかの局面において、提供される抗体は、1つまたは複数の規定の機能的特徴、例えば結合特性を有する、例えば特定のエピトープに結合するか、または関連性はあるが非特異的な抗原に対してより低い、もしくは低減された結合性を示す。いくつかの局面において、提供される抗体は、他の抗体、例えば参照抗体のエピトープと類似しているか、あるいは重複するエピトープに結合し得、かつ/または特定の結合親和性を示し得る。いく

50

つかの局面において、提供される抗体は、他の抗体のエピトープと異なるエピトープに結合し得、例えば構造的エピトープに結合する。

【0267】

いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片は、受容体チロシンキナーゼ様オファン受容体1 (ROR1) タンパク質に特異的に結合する。本明細書において提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、ROR1はヒトROR1を示す。抗体または他の結合分子がROR1に結合する、またはROR1に特異的に結合するという観察結果は、必ずしもこれがどの種のROR1にも結合することを意味するのではない。例えば、いくつかの態様において、ROR1に結合するという特徴、例えばいくつかの態様においてこれに特異的に結合する能力および/またはこれとの結合について参照抗体と競合する能力および/または特定の親和性を伴って結合するか、もしくは特定の度合いで競合する能力は、ヒトROR1タンパク質に対する能力を示し、該抗体は、別の種、例えばマウスのROR1に対してはこの特徴を有しないかもしれない。いくつかの態様において、該抗体はヒトROR1に結合し、別の種、例えばアカゲザル (*Rhesus macaque*) またはカニクイザル (*cynomolgus macaque*) のROR1に結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1に結合し、別の種、例えばマウスのROR1には結合しない。いくつかの態様において、該抗体はヒトROR1に結合し、別の種、例えばマウスのROR1にも結合する。

10

【0268】

いくつかの態様において、該抗体、例えば抗ROR1抗体、例えばヒト抗体は、ROR1の特定のエピトープまたは領域、例えば概して細胞外のエピトープまたは領域に特異的に結合する。ROR1は、免疫グロブリン (Ig) ドメイン、フリズルド (*frizzled*) (Fz) ドメインおよびクリングル (*kringle*) (Kr) ドメインを含む細胞外領域、続いて膜貫通ドメインを含むI型膜タンパク質である。SEQ ID NO:144に示されるヒトROR1 (GenBank No. AAA60275.1; SEQ ID NO:215, Uniprot No. Q01973に示されるシグナルペプチドを含む配列) に関して、細胞外領域はアミノ酸1~377に相当し、アミノ酸13~118はIgドメインに相当し、アミノ酸136~270はFzドメインに相当し、アミノ酸283~362はKrドメインに相当する (SEQ ID NO:215に示されるアミノ酸配列に関しては、アミノ酸42~147がIgドメイン、アミノ酸165~299がFzドメインおよびアミノ酸312~391がKrドメインに相当する)。いくつかの態様において、該抗体、例えばヒト抗体は、Igドメイン、Fzドメインおよび/またはKrドメイン内の残基を含むエピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体、例えばヒト抗体は、Igドメインおよび/またはFzドメインを伴う残基を含むエピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体、例えばヒト抗体は、IgとFzの両方のドメイン内の残基を含むエピトープに結合する。

20

30

【0269】

いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1に、例えばヒトROR1、例えばSEQ ID NO:144に示されるヒトROR1 (GenBank No. AAA60275.1; SEQ ID NO:215, Uniprot No. Q01973に示されるシグナルペプチドを含む配列)、またはその対立遺伝子バリエーションもしくはスプライスバリエーションの1つまたは複数のエピトープまたは領域に結合、例えば特異的に結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、ヒトROR1タンパク質における1つまたは複数のエピトープに特異的に結合する。一態様において、ヒトROR1は、SEQ ID NO:145または146に示されるアミノ酸配列を有する転写物バリエーションまたはアイソフォームである。いくつかの態様において、ヒトROR1タンパク質は、SEQ ID NO:144、145、146、または215に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は細胞外領域ROR1に、例えば例えばSEQ ID NO:144に示されるヒトROR1配列の残基1~377に相当する (シグナルペプチドを含むSEQ ID NO:215に示されるヒトROR1配列の残基30~406に相当する) ヒトROR1の細胞外領域内に存在する1つまたは複数の細胞外エピトープに結合する。

40

【0270】

50

いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、ROR1、例えばヒトROR1の1つまたは複数のエピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、ROR1、例えばヒトROR1の線状エピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、ROR1、例えばヒトROR1の1つまたは複数の構造的エピトープに結合する。

【0271】

いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、ヒトROR1の1つまたは複数のエピトープ、例えば、SEQ ID NO:199~214のうちのいずれか1つの中から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはSEQ ID NO:199~214のうちのいずれか1つの中から選択されるアミノ酸配列からなる1つまたは複数のエピトープ、あるいはSEQ ID NO:199~214のうちのいずれか1つの中から選択されるアミノ酸配列内に存在する1つまたは複数のエピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、ヒトROR1の1つまたは複数のエピトープ、例えば、配列

FRSTIYGSRLRIRNL

(SEQ ID NO:199に示される)を含む1つまたは複数のエピトープに結合する。いくつかの態様において、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片は、SEQ ID NO:199に示される配列からなるエピトープまたはSEQ ID NO:199に示される配列内に存在するエピトープに特異的に結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、追加のエピトープ、例えば1つまたは複数の構造的エピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、配列

FRSTIYGSRLRIRNL

(SEQ ID NO:199に示される)に加えて追加のエピトープに結合する。1つまたは複数の追加のエピトープの例示としては、非限定的に、SEQ ID NO:200~214に示される配列のうちの1つもしくは複数またはSEQ ID NO:200~214のうちのいずれか1つの中から選択されるアミノ酸配列内に存在する1つもしくは複数のエピトープが挙げられる。

【0272】

いくつかの態様において、該抗体は非ヒトROR1、例えばアカゲザル (*Macaca mulatta*) ROR1 (SEQ ID NO:216, Uniprot No. F6RUP2に示される) またはカニクイザル (*Macaca fascicularis*) ROR1 (SEQ ID NO:217, Uniprot No. A0A2K5WTX7; もしくはSEQ ID NO:218, Uniprot No. A0A2K5WTX4に示される) に結合する。いくつかの局面において、非ヒトROR1の細胞外ドメインはヒトROR1配列に対して少なくとも99%同一である。

【0273】

いくつかの態様において、該抗体は、非ヒトROR1、例えば、サル、ウサギ、ラット、マウスまたは他の種のROR1に結合する。いくつかの態様において、該抗体は、マウス (*Mus musculus*) ROR1に、例えば、マウスROR1、例えばSEQ ID NO:171に示されるマウスROR1 (GenBank No. NP_038873; SEQ ID NO:219, Uniprot No. Q9Z139に示されるシグナルペプチドを含む配列) のエピトープまたは領域に結合する。いくつかの態様において、該抗体は、ヒトROR1に結合し、かつマウスROR1にも結合する。いくつかの態様において、提供される抗ROR1抗体またはその断片のいくつかの非ヒトROR1 (例えばマウスROR1) への結合の程度は、該抗体のヒトROR1への結合の、少なくとも、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、100%もしくは約100%、110%もしくは約110%、120%もしくは約120%、130%もしくは約130%、140%もしくは約140%、または150%もしくは約150%、またはそれ以上である。

【0274】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、該抗体またはその抗原結合断片は、非ヒトROR1 (任意でマウスROR1) には結合しないか、交差反応しないか、またはより低い

程度、レベル、度合い、もしくは親和性で結合する。いくつかの態様において、抗ROR1抗体の、無関連の非ROR1タンパク質または非ヒトROR1タンパク質、例えばマウスROR1タンパク質または他の非ROR1タンパク質への結合の程度は、測定時、該抗体のヒトROR1への結合の50%未満もしくは約50%未満、40%未満もしくは約40%未満、30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満である。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、マウスROR1、例えばSEQ ID NO:171または219に示されるマウスROR1に結合しない。いくつかの態様において、該抗体または抗原結合断片は、マウスROR1には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する。いくつかの態様において、提供される抗ROR1抗体またはその抗原結合断片の、マウスROR1への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性は、ヒトROR1への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性よりも、少なくとも、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低い。

【0275】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、該抗体またはその抗原結合断片は、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体2 (ROR2) タンパク質 (任意でヒトROR2タンパク質) には結合しないか、交差反応しないか、またはより低い程度、レベル、度合い、もしくは親和性で結合する。いくつかの態様において、提供される抗ROR1抗体またはその断片のいくつかの非ROR1タンパク質 (例えばROR2タンパク質) への結合の程度は、該抗体のヒトROR1への結合より、少なくとも、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低い。いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片は、ROR2タンパク質 (任意でヒトROR2タンパク質) には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する。いくつかの態様において、提供される抗体の中には、マウスROR1への結合が該抗体のヒトROR1への結合の30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満、例えば10%未満または約10%未満である抗体がある。いくつかの態様において、提供される抗体の中には、ROR2、例えばヒトROR2への結合が該抗体のヒトROR1への結合の30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満、例えば10%未満または約10%未満である抗体がある。

【0276】

いくつかの態様において、提供される抗体は、ROR1、例えばヒトROR1に、いくつかの公知の方法のいずれかによる測定時、少なくともある特定の親和性で結合することができる。いくつかの態様において、親和性は平衡解離定数 (K_D) によって表される。いくつかの態様では、親和性は EC_{50} によって表される。

【0277】

結合親和性、平衡解離定数 (K_D)、平衡結合定数 (K_A)、 EC_{50} 、オンレート (結合速度定数; k_{on} もしくは k_a ; 単位は $1/Ms$ もしくは $M^{-1}s^{-1}$) およびオフレート (解離速度定数; k_{off} もしくは k_d ; 単位は $1/s$ もしくは s^{-1}) を評価するため、および/または結合分子 (例えば、抗体もしくはその断片) が特定のリガンド (例えば、抗原、例えばROR1タンパク質) に特異的に結合するかどうかを調べるための様々なアッセイが公知である。結合分子 (例えば抗体またはその抗原結合断片) の抗原 (例えばROR1、例えばヒトROR1またはカニクイザルROR1またはマウスROR1) に対する結合親和性は、例えばいくつかの周知の結合アッセイのいずれかを使用することによって測定され得る。例えば、いくつかの態様において、BIAcore (登録商標) 機器は、2つのタンパク質 (例えば、抗体またはその断片と抗原、例えばROR1タンパク質) 間の複合体の結合速度論および結合定数を、表面プラズモン共鳴 (SPR) 解析を用いて調べるために使用され得る (例えばScatchard et al., Ann. N. Y. Acad. Sci. 51: 660, 1949; Wilson, Science 295: 2103, 2002; Wolff et al., Cancer Res. 53: 2560, 1993; および米国特許第5,283,173号、同第5,468,614号またはその対応文献参照)。

【0278】

SPRでは、分子がセンサー表面に結合またはセンサー表面から解離する際の該表面の分子の濃度の変化が測定される。SPRシグナルの変化は、表面付近の質量濃度の変化に正比例し、それにより2つの分子間の結合速度論の測定が可能になる。複合体の解離速度定数 (k_{off} もしくは k_d)、結合速度定数 (k_{on} もしくは k_a) および/または平衡解離定数 (K_D) および/または平衡結合定数 (K_A) は、バッファがチップを通過する際の時間に対する屈折率の変化をモニタリングすることにより求めることができる。あるタンパク質の別のタンパク質への結合を測定するための他の好適なアッセイとしては、例えばイムノアッセイ、例えば酵素結合イムノソルベントアッセイ (ELISA) およびラジオイムノアッセイ (RIA)、または蛍光、UV吸収、円偏光二色性もしくは核磁気共鳴 (NMR) によりタンパク質の分光特性もしくは光学特性の変化をモニタリングすることによる結合の測定が挙げられる。他の例示的なアッセイとしては、非限定的に、ウエスタンブロット、ELISA、分析用超遠心分離、分光法、フローサイトメトリー、シーケンシング、遺伝子レポーターアッセイ、フローサイトメトリーおよび核酸の発現またはタンパク質の結合の検出のための他の方法が挙げられる。

【0279】

いくつかの態様において、該結合分子 (例えば抗体またはその断片) は、抗原、例えば ROR1タンパク質またはそのエピトープに、 $10^5 M^{-1}$ (すなわち、特定の結合相互作用の平衡結合定数、単位は $1/M$ または M^{-1} ; 二分子間の相互作用と仮定して、この結合反応のオフレート [k_{off} または k_d] に対するオンレート [k_{on} または k_a] の比である) 以上の親和性または K_A で結合 (例えば特異的に結合) する。いくつかの態様において、該ペプチド結合分子は、抗原 (例えばヒトROR1) のエピトープに、 $10^5 M^{-1}$ (これは、この結合反応のオフレート [k_{off}] に対するオンレート [k_{on}] の比である) 以上の親和性または K_A (すなわち、特定の結合相互作用の平衡結合定数、単位は $1/M$ または M^{-1}) で結合 (例えば特異的に結合) する。いくつかの態様において、該結合分子 (例えば抗体またはその抗原結合断片) は、標的ポリペプチドのT細胞エピトープに対して、 $10^6 M^{-1}$ もしくは約 $10^6 M^{-1}$ から $10^{10} M^{-1}$ もしくは約 $10^{10} M^{-1}$ 、例えば $10^6 M^{-1}$ もしくは約 $10^6 M^{-1}$ から $10^9 M^{-1}$ もしくは約 $10^9 M^{-1}$ 、または $10^6 M^{-1}$ もしくは約 $10^6 M^{-1}$ から $10^8 M^{-1}$ もしくは約 $10^8 M^{-1}$ の範囲の親和性または K_A を有する結合親和性を示す。いくつかの態様において、結合親和性は、高親和性または低親和性と分類され得る。例えば、いくつかの場合において、特定のエピトープに対して高親和性の結合を示す結合分子 (例えば抗体またはその抗原結合断片) は、かかるエピトープと、少なくとも $10^7 M^{-1}$ または少なくとも約 $10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $10^8 M^{-1}$ または少なくとも約 $10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $10^9 M^{-1}$ または少なくとも約 $10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $10^{10} M^{-1}$ または少なくとも約 $10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{11} M^{-1}$ または少なくとも約 $10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{12} M^{-1}$ 、または少なくとも約 $10^{12} M^{-1}$ または少なくとも $10^{13} M^{-1}$ 、または少なくとも約 $10^{13} M^{-1}$ の K_A で相互作用する。いくつかの場合において、低親和性の結合を示す結合分子 (例えば抗体またはその抗原結合断片) は、最大 $10^7 M^{-1}$ 、最大 $10^6 M^{-1}$ 、最大 $10^5 M^{-1}$ の K_A を示す。

【0280】

あるいは、親和性は、特定の結合相互作用の単位がMの平衡解離定数 (K_D) として規定され得る (例えば、 $10^{-5} M \sim 10^{-13} M$)。いくつかの態様において、該抗体またはその断片は該エピトープに対して、 $10^{-5} M$ と等しいか、または $10^{-5} M$ 未満の K_D (すなわち、特定の結合相互作用の平衡解離定数、単位はM; 二分子間の相互作用と仮定して、この結合反応のオンレート [k_{on} または k_a] に対するオフレート [k_{off} または k_d] の比である) の結合親和性を示す。例えば、平衡解離定数 K_D は、 $10^{-5} M \sim 10^{-13} M$ 、例えば $10^{-7} M \sim 10^{-11} M$ 、 $10^{-7} M \sim 10^{-10} M$ 、 $10^{-7} M \sim 10^{-9} M$ 、 $10^{-8} M \sim 10^{-10} M$ または $10^{-9} M \sim 10^{-10} M$ の範囲であり得る。

【0281】

オンレート (結合速度定数; k_{on} または k_a ; 単位は $1/Ms$ または $M^{-1}s^{-1}$) およびオフレート (解離速度定数; k_{off} または k_d ; 単位は $1/s$ または s^{-1}) は、公知の任意のアッセイ方

法、例えば表面プラズモン共鳴（SPR）、またはあるタンパク質の別のタンパク質への結合を測定するための本明細書に記載の他の方法を用いて求めることができる。

【0282】

いくつかの態様において、該抗体のROR1（例えばヒトROR1）に対する結合親和性（ EC_{50} ）および/または平衡解離定数（ K_D ）は0.1nMもしくは約0.1nMから500nMもしくは約500nM、0.1nMもしくは約0.1nMから100nMもしくは約100nM、0.1nMもしくは約0.1nMから50nMもしくは約50nM、0.1nMもしくは約0.1nMから10nMもしくは約10nM、0.1nMもしくは約0.1nMから1nMもしくは約1nM、1nMもしくは約1nMから500nMもしくは約500nM、1nMもしくは約1nMから100nMもしくは約100nM、1nMもしくは約1nMから50nMもしくは約50nM、1nMもしくは約1nMから10nMもしくは約10nM、10nMもしくは約10nMから500nMもしくは約500nM、10nMもしくは約10nMから100nMもしくは約100nM、10nMもしくは約10nMから50nMもしくは約50nM、50nMもしくは約50nMから500nMもしくは約500nM、50nMもしくは約50nMから100nMもしくは約100nMまたは100nMもしくは約100nMから500nMもしくは約500nMである。一部の特定の態様において、該抗体のROR1（例えばヒトROR1）に対する結合親和性（ EC_{50} ）および/または平衡解離定数（ K_D ）は、100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM、もしくは1nM、または約100nM、約50nM、約40nM、約30nM、約25nM、約20nM、約19nM、約18nM、約17nM、約16nM、約15nM、約14nM、約13nM、約12nM、約11nM、約10nM、約9nM、約8nM、約7nM、約6nM、約5nM、約4nM、約3nM、約2nM、もしくは約1nM、または100nM未満、50nM未満、40nM未満、30nM未満、25nM未満、20nM未満、19nM未満、18nM未満、17nM未満、16nM未満、15nM未満、14nM未満、13nM未満、12nM未満、11nM未満、10nM未満、9nM未満、8nM未満、7nM未満、6nM未満、5nM未満、4nM未満、3nM未満、2nM未満、もしくは1nM未満、または約100nM未満、約50nM未満、約40nM未満、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約19nM未満、約18nM未満、約17nM未満、約16nM未満、約15nM未満、約14nM未満、約13nM未満、約12nM未満、約11nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、もしくは約1nM未満、あるいは前記のものいずれかによって画定される範囲である。いくつかの態様において、該抗体はROR1、例えばヒトROR1に、サブナノモル濃度の結合親和性で、例えば1nM未満または約1nM未満、例えば0.9nM未満、0.8nM未満、0.7nM未満、0.6nM未満、0.5nM未満、0.4nM未満、0.3nM未満、0.2nM未満、もしくは0.1nM未満、または約0.9nM未満、約0.8nM未満、約0.7nM未満、約0.6nM未満、約0.5nM未満、約0.4nM未満、約0.3nM未満、約0.2nM未満、もしくは約0.1nM未満の結合親和性で結合する。いくつかの態様において、該結合分子（例えば抗ROR1抗体またはその断片）のROR1タンパク質（例えばヒトROR1タンパク質）に対する結合親和性（ EC_{50} ）および/または平衡解離定数 K_D は、0.01nMもしくは約0.01nMから約1 μ M、0.1nM～1 μ M、1nM～1 μ M、1nM～500nM、1nM～100nM、1nM～50nM、1nM～10nM、10nM～500nM、10nM～100nM、10nM～50nM、50nM～500nM、50nM～100nMまたは100nM～500nMである。一部の特定の態様において、該結合分子（例えば抗ROR1抗体またはその断片）のROR1タンパク質（例えばヒトROR1タンパク質）に対する結合親和性（ EC_{50} ）および/または平衡解離定数 K_D は、1 μ M、500nM、100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM、もしくは1nM、もしくはそれ未満、または約1 μ M、約500nM、約100nM、約50nM、約40nM、約30nM、約25nM、約20nM、約19nM、約18nM、約17nM、約16nM、約15nM、約14nM、約13nM、約12nM、約11nM、約10nM、約9nM、約8nM、約7nM、約6nM、約5nM、約4nM、約3nM、約2nM、もしくは約1nM、もしくはそれ未満、または1 μ M未満、500nM未満、100nM未満、50nM未満、40nM未満、30nM未満、25nM未満、20nM未満、

10

20

30

40

50

19nM未満、18nM未満、17nM未満、16nM未満、15nM未満、14nM未満、13nM未満、12nM未満、11nM未満、10nM未満、9nM未満、8nM未満、7nM未満、6nM未満、5nM未満、4nM未満、3nM未満、2nM未満、もしくは1nM未満、もしくはそれ未満、または約1 μ M未満、約500nM未満、約100nM未満、約50nM未満、約40nM未満、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約19nM未満、約18nM未満、約17nM未満、約16nM未満、約15nM未満、約14nM未満、約13nM未満、約12nM未満、約11nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、もしくは約1nM未満、もしくはそれ未満、あるいは前記のものいずれかによって画定される範囲である。

【0283】

いくつかの態様において、該結合分子（例えば抗ROR1抗体またはその断片）のROR1タンパク質に対するEC₅₀および/またはK_Dは10nMもしくは約10nMから90nMもしくは約90nM、20nMもしくは約20nMから80nMもしくは約80nM、30nMもしくは約30nMから70nMもしくは約70nM、40nMもしくは約40nMから60nMもしくは約60nMまたは40nMもしくは約40nMから50nMもしくは約50nMである。一部の特定の態様において、該結合分子（例えば抗ROR1抗体またはその断片）のROR1タンパク質（例えばヒトROR1タンパク質）に対するEC₅₀および/またはK_Dは、10nMもしくは約10nM、20nMもしくは約20nM、30nMもしくは約30nM、40nMもしくは約40nM、50nMもしくは約50nM、60nMもしくは約60nM、70nMもしくは約70nM、80nMもしくは約80nM、90nMもしくは約90nM、または100nMもしくは約100nM、あるいは前記のものいずれかによって画定される範囲である。一部の特定の態様において、該結合分子（例えば抗ROR1抗体またはその断片）のROR1タンパク質（例えばヒトROR1タンパク質）に対するEC₅₀および/またはK_Dは、10nMもしくは約10nM、20nMもしくは約20nM、30nMもしくは約30nM、40nMもしくは約40nM、50nMもしくは約50nM、60nMもしくは約60nM、70nMもしくは約70nM、80nMもしくは約80nM、90nMもしくは約90nM、または100nMもしくは約100nM、あるいは前記のものいずれかによって画定される範囲である。一部の特定の態様において、該結合分子（例えば抗ROR1抗体またはその断片）のROR1タンパク質（例えばヒトROR1タンパク質）に対するEC₅₀および/またはK_Dは、40nMもしくは約40nM、41nMもしくは約41nM、42nMもしくは約42nM、43nMもしくは約43nM、44nMもしくは約44nM、または45nMもしくは約45nM、あるいは前記のものいずれかによって画定される範囲である。

【0284】

いくつかの態様において、提供される結合分子のV_H領域は、SEQ ID NO:112に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、提供される結合分子のV_L領域は、SEQ ID: NO 115に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含み、ヒトROR1に対する平衡解離定数（K_D）は30nMまたは約30nMから50nMまたは約50nMである。いくつかの態様において、提供される結合分子のV_H領域およびV_L領域はそれぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含み、ヒトROR1に対するオフレート（k_{off}またはk_d）は40nMまたは約40nMである。

【0285】

いくつかの態様において、提供される結合分子（例えば抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片またはかかる抗体もしくは抗原結合断片を含む受容体）は、速いオフレート（解離速度定数；k_{off}またはk_d；単位は1/sまたはs⁻¹）を有する。いくつかの態様において、提供される結合分子のオフレート（k_{off}またはk_d）は、1×10⁻⁵s⁻¹もしくは約1×10⁻⁵s⁻¹から1×10⁻²s⁻¹もしくは約1×10⁻²s⁻¹、例えば5×10⁻⁵s⁻¹もしくは約5×10⁻⁵s⁻¹から9×10⁻³s⁻¹もしくは約9×10⁻³s⁻¹、1×10⁻⁴s⁻¹もしくは約1×10⁻⁴s⁻¹から8×10⁻³s⁻¹もしくは約8×10⁻³s⁻¹、5×10⁻⁴s⁻¹もしくは約5×10⁻⁴s⁻¹から7×10⁻³s⁻¹もしくは約7×10⁻³s⁻¹、1×10⁻³s⁻¹もしくは約1×10⁻³s⁻¹から6×10⁻³s⁻¹もしくは約6×10⁻³s⁻¹および4×10⁻³s⁻¹もしくは約4×10⁻³s⁻¹から6×10⁻³s⁻¹もしくは約6×10⁻³s⁻¹である。いくつかの態様において、提供される結合分子のオフレート（k_{off}またはk_d）は、少なく

10

20

30

40

50

とも、 $1 \times 10^{-5} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-5} \text{s}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-5} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-5} \text{s}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、または $1 \times 10^{-2} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-2} \text{s}^{-1}$ である。いくつかの態様において、提供される結合分子のオフレート (k_{off} または k_d) は、少なくとも、 $6 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $6 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 、 $7 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $7 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 、 $8 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $8 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 、 $9 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $9 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $2 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $2 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $3 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $3 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $4 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $4 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $6 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $6 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $7 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $7 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $8 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $8 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $9 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $9 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、または $1 \times 10^{-2} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-2} \text{s}^{-1}$ である。いくつかの態様において、提供される結合分子のオフレート (k_{off} または k_d) は、少なくとも、 $4 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $4 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、または $6 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $6 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、あるいは前記のもののいずれかによって画定される範囲である。いくつかの態様において、提供される結合分子、例えば抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片またはかかる抗体もしくは抗原結合断片を含む受容体は、抗ROR1参照抗体もしくはその抗原結合断片またはかかる抗体もしくは抗原結合断片を含む受容体（例えば抗ROR1抗体R12）のオフレートより、少なくとも、2倍もしくは約2倍、3倍もしくは約3倍、4倍もしくは約4倍、5倍もしくは約5倍、6倍もしくは約6倍、7倍もしくは約7倍、8倍もしくは約8倍、9倍もしくは約9倍、または10倍もしくは約10倍速いオフレートを有する。

【0286】

いくつかの態様において、提供される結合分子の V_H 領域は、SEQ ID NO:112に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、提供される結合分子の V_L 領域は、SEQ ID: NO 115に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含み、ヒトROR1に対するオフレート (k_{off} または k_d) は $4 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $4 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ から $6 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ もしくは約 $6 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ である。いくつかの態様において、提供される結合分子の V_H 領域および V_L 領域はそれぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、またはそれを含み、ヒトROR1に対するオフレート (k_{off} または k_d) は $5 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ または約 $5 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ である。

【0287】

いくつかの態様において、種間交差反応性を調べるために、異なる抗原（例えば異なる種に由来するROR1タンパク質）に対する結合分子（例えば抗ROR1抗体）の結合親和性が比較され得る。例えば、種間交差反応性は、高交差反応性または低交差反応性と分類され得る。いくつかの態様において、種間交差反応性を調べるために、異なる抗原（例えば、異なる種、例えばヒト、カニクイザルまたはマウスに由来するROR1タンパク質）に対する平衡解離定数 K_D が比較され得る。いくつかの態様において、抗ROR1抗体の種間交差反応性は高いものであり得、例えば抗ROR1抗体はヒトROR1および種バリエーションROR1にほぼ同等の度合いで結合し、例えばヒトROR1に対する K_D と種バリエーションROR1に対する K_D の比は1または約1である。いくつかの態様において、抗ROR1抗体の種間交差反応性は低いものであり得、例えば抗ROR1抗体はヒトROR1に対して高親和性を有するが種バリエーションROR1に対しては低親和性を有するか、またはその逆である。例えば、種バリエーションROR1に対する K_D とヒトROR1に対する K_D の比は、10より大きい、15より大きい、20より大きい、25より大きい、30より大きい、40より大きい、50より大きい、60より大きい、70より大きい、80より大きい、90より大きい、100より大きい、200より大きい、500より大きい、1000より大きい、2000より大きい、またはそれより大きく、抗ROR1抗体は低い種間交差反応性を有する。種間交差反応性の度合いを公知の抗体（例えば参照抗体）の種間交差反応性と比較してもよい。

【0288】

いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片は、ほぼ同等の度合いでヒトROR1タンパク質および非ヒトROR1タンパク質に結合する。例えば、いくつかの

態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1タンパク質またはその対立遺伝子バリエーションもしくはスプライスバリエーションに、ある特定の平衡解離定数 (K_D) で結合し、非ヒトROR1、例えばカニクイザルROR1に、ほぼ同等もしくはほぼ同じ、または2倍未満異なる、もしくは5倍未満異なる K_D で結合する。

【0289】

例えば、いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片はヒトROR1に約1 μ M、約500nM、約100nM、約50nM、約40nM、約30nM、約25nM、約20nM、約19nM、約18nM、約17nM、約16nM、約15nM、約14nM、約13nM、約12nM、約11nM、約10nM、約9nM、約8nM、約7nM、約6nM、約5nM、約4nM、約3nM、約2nM、もしくは約1nM、もしくはそれ未満、または1 μ M未満、500nM未満、100nM未満、50nM未満、40nM未満、30nM未満、25nM未満、20nM未満、19nM未満、18nM未満、17nM未満、16nM未満、15nM未満、14nM未満、13nM未満、12nM未満、11nM未満、10nM未満、9nM未満、8nM未満、7nM未満、6nM未満、5nM未満、4nM未満、3nM未満、2nM未満、もしくは1nM未満、もしくはそれ未満、または約1 μ M未満、約500nM未満、約100nM未満、約50nM未満、約40nM未満、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約19nM未満、約18nM未満、約17nM未満、約16nM未満、約15nM未満、約14nM未満、約13nM未満、約12nM未満、約11nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、もしくは約1nM未満、もしくはそれ未満の K_D で結合し、カニクイザルROR1に約1 μ M、約500nM、約100nM、約50nM、約40nM、約30nM、約25nM、約20nM、約19nM、約18nM、約17nM、約16nM、約15nM、約14nM、約13nM、約12nM、約11nM、約10nM、約9nM、約8nM、約7nM、約6nM、約5nM、約4nM、約3nM、約2nM、もしくは約1nM、もしくはそれ未満、または1 μ M未満、500nM未満、100nM未満、50nM未満、40nM未満、30nM未満、25nM未満、20nM未満、19nM未満、18nM未満、17nM未満、16nM未満、15nM未満、14nM未満、13nM未満、12nM未満、11nM未満、10nM未満、9nM未満、8nM未満、7nM未満、6nM未満、5nM未満、4nM未満、3nM未満、2nM未満、もしくは1nM未満、もしくはそれ未満、または約1 μ M未満、約500nM未満、約100nM未満、約50nM未満、約40nM未満、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約19nM未満、約18nM未満、約17nM未満、約16nM未満、約15nM未満、約14nM未満、約13nM未満、約12nM未満、約11nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、もしくは約1nM未満、もしくはそれ未満の K_D で結合する。いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片はマウスROR1タンパク質に約1 μ M、約500nM、約100nM、約50nM、約40nM、約30nM、約25nM、約20nM、約19nM、約18nM、約17nM、約16nM、約15nM、約14nM、約13nM、約12nM、約11nM、約10nM、約9nM、約8nM、約7nM、約6nM、約5nM、約4nM、約3nM、約2nM、もしくは約1nM、もしくはそれ未満、または1 μ M未満、500nM未満、100nM未満、50nM未満、40nM未満、30nM未満、25nM未満、20nM未満、19nM未満、18nM未満、17nM未満、16nM未満、15nM未満、14nM未満、13nM未満、12nM未満、11nM未満、10nM未満、9nM未満、8nM未満、7nM未満、6nM未満、5nM未満、4nM未満、3nM未満、2nM未満、もしくは1nM未満、もしくはそれ未満、または約1 μ M未満、約500nM未満、約100nM未満、約50nM未満、約40nM未満、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約19nM未満、約18nM未満、約17nM未満、約16nM未満、約15nM未満、約14nM未満、約13nM未満、約12nM未満、約11nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、もしくは約1nM未満、もしくはそれ未満の K_D で結合する。いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片は、ヒトROR1、カニクイザルROR1、およびマウスROR1に高親和性で結合する。いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片は、ヒトROR1およびカニクイザルROR1には高親和性で結合し、マウスROR1には低親和性で結合する。いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結

10

20

30

40

50

合断片は、ヒトROR1および他の種に由来するROR1またはROR1タンパク質の他のバリエーションに高親和性で結合する。

【0290】

いくつかの態様において、特定の表面プラズモン共鳴（SPR）条件を用いて測定される総結合能（ R_{max} ）が、抗原（例えばROR1タンパク質、例えばヒトROR1タンパク質）に対する提供される抗体またはその抗原結合断片の結合能力または結合能を調べるために使用される。SPR解析では、「リガンド」は、センサーの表面上の固定化された標的分子、例えばROR1タンパク質であり、「被検物質」は、「リガンド」に対する結合について試験対象の分子、例えば抗体である。例えば、「被検物質」は、ROR1タンパク質に結合する提供されるいずれかの抗体またはその抗原結合断片であり得る。SPRにおける特定のリガンドと被検物質のペアについて、 R_{max} は、1:1の結合化学量論モデルを仮定して特定の条件で求められ得る。いくつかの態様において、結合能（ R_{max} ）は、以下の式： $R_{max} (RU) = (\text{被検物質の分子量}) / (\text{リガンドの分子量}) \times \text{固定化されたリガンドレベル} (RU)$ を用いて求めることができる。SPR条件の特定の局面において、提供されるいずれかの抗体またはその抗原結合断片とROR1タンパク質（例えばヒトROR1またはカニクイザルROR1）の間の結合の R_{max} は、少なくとも50または約50レゾナンスユニット（RU）、例えば、約25RU、約20RU、約15RU、約10RU、約5RU、または約1RUである。

10

【0291】

いくつかの態様において、提供される抗体の特性または特徴は、別の抗体、例えば参照抗体で観察される特性との関連において記載される。いくつかの態様において、参照抗体は非ヒト抗ROR1抗体、例えばウサギまたはキメラまたはヒト化抗ROR1抗体である。いくつかの局面において、参照抗体は、R12と表示されるウサギ/ヒトキメラのIgG1抗体（例えば、Yang et al. (2011) PloS ONE, 6: e21018；米国特許出願公開第2013/0251642号参照）および/またはこれに由来する断片、例えばそのscFv断片および/またはかかる抗体の V_H 配列および V_L 配列を含む抗体および/またはかかる抗体の重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む抗体である。R12の抗原結合scFv断片を含むキメラ抗原受容体（CAR）は、CAR療法において抗腫瘍反応性を有効に促進させることが実証されている（Hudecek et al. (2013) Clin. Cancer Res., 19: 3153；PCT国際特許出願公開WO2014031687号）。いくつかの態様において、参照抗体は、SEQ ID NO:142に示されるアミノ酸配列を含むscFvである。

20

30

【0292】

いくつかの態様において、参照抗体は、2A2と表示されるマウス抗ヒトROR1抗体および/またはこれに由来する断片、例えばそのscFv断片および/またはかかる抗体の V_H 配列および V_L 配列を含む抗体および/またはかかる抗体の重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む抗体である（例えば、Baskar et al. (2012) MAbs, 4: 349-361；米国特許出願公開第2012/20058051号参照）。例えば、いくつかの態様において、参照抗体は、SEQ ID NO:172に示される配列を含む V_H 領域およびSEQ ID NO:173に示される配列を含む V_L を有する。いくつかの態様において、参照抗体は抗体2A2のscFv形態である。

【0293】

いくつかの態様において、参照抗体は、ヒト抗ROR1抗体またはヒト化抗ROR1抗体である。例示的なヒト化抗ROR1抗体は、PCT国際特許出願公開WO2014/031174号に記載されている。いくつかの態様において、参照抗体は、99961と表示される抗体のヒト化バリエーションである。いくつかの態様において、参照抗体は、SEQ ID NO:174、175、176、または177に示される配列を含む V_H 領域と、SEQ ID NO:178、179、180、または181に示される配列を含む V_L とを有する。

40

【0294】

いくつかの態様において、提供される抗体は、参照抗体に存在するCDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む。提供される抗体の中には、結合に関して参照抗体（例えばR12）と競合し、かつ/または参照抗体（例えばR12）が結合するものと同じかもしくは重複するROR1エピトープに結合するが、それにもかかわらず相異なるCDR、例えば相異なる

50

重鎖および/または軽鎖のCDR1、CDR2、およびCDR3を含んでいるものがある。

【0295】

いくつかの態様において、該抗体は、参照抗体の対応する形態のものとほぼ同じであるか、またはそれより低い親和性、例えば、参照抗体の対応する形態のEC₅₀またはK_Dより、1.5倍以下もしくは約1.5倍以下大きい、または2倍以下もしくは約2倍以下大きい、3倍以下もしくは約3倍以下大きい、および/または10倍以下もしくは約10倍以下大きい、EC₅₀またはK_Dを有する。いくつかの態様において、該抗体は、参照抗体の対応する形態のものとほぼ同じであるか、またはそれより低い親和性、例えば、参照抗体の対応する形態のEC₅₀またはK_Dよりも、少なくとも1.5倍もしくは約1.5倍大きい、少なくとも2倍もしくは約2倍大きい、少なくとも3倍もしくは約3倍大きい、少なくとも5倍もしくは約5倍大きい、少なくとも10倍もしくは約10倍大きい、少なくとも20倍もしくは約20倍大きい、少なくとも25倍もしくは約25倍大きい、少なくとも30倍もしくは約30倍大きい、少なくとも40倍もしくは約40倍大きい、少なくとも50倍もしくは約50倍大きい、または少なくとも100倍もしくは約100倍大きい、EC₅₀またはK_Dを有する。いくつかの態様において、該抗体は、参照抗体の対応する形態のものとほぼ同じであるか、またはそれより低い親和性を有し、参照抗体の親和性よりも、1.5倍もしくは約1.5倍、2倍もしくは約2倍、3倍もしくは約3倍、4倍もしくは約4倍、5倍もしくは約5倍、6倍もしくは約6倍、7倍もしくは約7倍、8倍もしくは約8倍、9倍もしくは約9倍、10倍もしくは約10倍、20倍もしくは約20倍、25倍もしくは約25倍、30倍もしくは約30倍、40倍もしくは約40倍、50倍もしくは約50倍、100倍もしくは約100倍低い、親和性を有する。

10

20

【0296】

いくつかの態様において、該抗体は、参照抗体の対応する形態のものより大きな親和性を有し、例えば、参照抗体の対応する形態のEC₅₀またはK_Dよりも低いか、あるいは参照抗体の対応する形態のEC₅₀またはK_Dよりも、5倍未満もしくは約5倍未満、10倍未満もしくは約10倍未満、20倍未満もしくは約20倍未満、30倍未満もしくは約30倍未満、40倍未満もしくは約40倍未満、50倍未満もしくは約50倍未満、60倍未満もしくは約60倍未満、70倍未満もしくは約70倍未満、80倍未満もしくは約80倍未満、90倍未満もしくは約90倍未満、100倍未満もしくは約100倍未満、150倍未満もしくは約150倍未満、200倍未満もしくは約200倍未満、250倍未満もしくは約250倍未満、またはそれより低い、EC₅₀またはK_Dを有する。

30

【0297】

いくつかの態様において、該抗体は、ROR1陰性細胞と比べてROR1発現細胞に対して結合優先性を示し、例えば、ROR1を発現することが公知かつ/または本明細書に記載の特定の細胞に対して、ROR1を発現しないこと、あるいは関連性はあるが異なる抗原（例えばROR2）を発現することが公知の特定の細胞と比べて、結合優先性を示す。いくつかの態様において、ROR1発現細胞に対して、非発現細胞または関連性はあるが異なる抗原を発現する細胞と比べて有意に大きな度合いの結合が測定される場合に、結合優先性が観察される。いくつかの態様において、例えばフローサイトメトリーベースのアッセイでの平均蛍光強度および/または解離定数もしくはEC₅₀による測定時に検出される、非ROR1発現細胞または関連性はあるが異なる抗原を発現する細胞と比べたROR1発現細胞への結合の度合いの変化倍数は、少なくとも、1.5もしくは約1.5、2もしくは約2、3もしくは約3、4もしくは約4、5もしくは約5、6もしくは約6、またはそれより大きく、かつ/あるいは参照抗体の対応する形態で観察される変化倍数とほぼ同程度に大きい、ほぼ同じ、少なくとも同程度に大きい、もしくは少なくともほぼ同程度に大きい、または大きい。いくつかの場合において、観察されるROR1またはROR1発現細胞への結合の全体的な度合いは、参照抗体の対応する形態で観察されるものとほぼ同じ、少なくとも同程度に大きい、またはより大きい。

40

【0298】

いくつかの局面において、親和性は参照抗体、例えばウサギROR1抗体の対応する形態と比べて同じ度合いまたはほぼ同じ度合いまたは実質的に同じ度合いの親和性である。い

50

くつかの局面において、親和性は参照抗体の対応する形態のものの少なくとも80、85、90、95もしくは99%、または少なくとも約80、85、90、95もしくは99%あるいは参照抗体の対応する形態のものと同じである。

【0299】

いくつかの態様において、抗体は、参照抗体が結合するROR1のエピトープと重複するエピトープに特異的に結合する。いくつかの局面において、かかる抗体の中には、参照抗体と同じかまたは類似のエピトープに結合する抗体がある。いくつかの態様において、抗体は、参照抗体、例えば抗ROR1抗体R12またはそのscFv断片（SEQ ID NO:142に示される；例えばYang et al. (2011) PloS ONE, 6: e21018参照）と同じかまたは類似のエピトープあるいはROR1の同じ領域内のエピトープまたは同じ領域内の残基を含むエピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体は、ROR1（例えばヒトROR1）への結合を阻害し、かつ/またはROR1（例えばヒトROR1）への結合について参照抗体と競合する。

【0300】

競合阻害アッセイは公知であり、ELISAベース、フローサイトメトリーベースのアッセイ、およびRIAベースのアッセイが挙げられる。いくつかの局面において、競合阻害アッセイは、一方の抗体を非標識形態で過剰に組み込み、結合度合いおよびその低減が標識またはマーカーの検出によって評価できるように検出可能なマーカーで標識された他方の抗体の結合をブロックする能力を評価することにより行なわれる。いくつかの態様において、提供される抗体を、参照抗体の量または濃度と比べて過剰に、例えば1倍、2倍、5倍、10倍、50倍または100倍過剰に添加することにより、参照抗体による抗原への結合が阻害される（または逆も同様）。いくつかの態様において、結合の阻害は少なくとも50%、いくつかの態様では少なくとも75%、90%または99%である。いくつかの局面において、競合阻害は、競合結合アッセイにおいて測定される（例えば、Junghans et al., Cancer Res. 1990: 50: 1495-1502参照）。競合アッセイは、本明細書に記載の任意の抗体と競合する抗体を同定するために使用され得る。また、該抗体および参照抗体によって結合されるエピトープをマッピングするためのアッセイも使用され得、公知である。

【0301】

いくつかの態様において、参照抗体が2nMまたは約2nMの濃度で存在する場合、提供される抗体は、200nM未満もしくは約200nM未満、150nM未満もしくは約150nM未満、100nM未満もしくは約100nM未満、50nM未満もしくは約50nM未満、40nM未満もしくは約40nM未満、30nM未満もしくは約30nM未満、25nM未満もしくは約25nM未満、20nM未満もしくは約20nM未満、19nM未満もしくは約19nM未満、18nM未満もしくは約18nM未満、17nM未満もしくは約17nM未満、16nM未満もしくは約16nM未満、15nM未満もしくは約15nM未満、14nM未満もしくは約14nM未満、13nM未満もしくは約13nM未満、12nM未満もしくは約12nM未満、11nM未満もしくは約11nM未満、または10nM未満もしくは約10nM未満、あるいは9nM未満もしくは約9nM未満、8nM未満もしくは約8nM未満、7nM未満もしくは約7nM未満、6nM未満もしくは約6nM未満、または5nM未満もしくは約5nM未満のIC₅₀で、参照抗体の結合を阻害する。いくつかの態様において、提供される抗体が2nMまたは約2nMの濃度で存在する場合、参照抗体は、200nM未満もしくは約200nM未満、150nM未満もしくは約150nM未満、100nM未満もしくは約100nM未満、50nM未満もしくは約50nM未満、40nM未満もしくは約40nM未満、30nM未満もしくは約30nM未満、25nM未満もしくは約25nM未満、20nM未満もしくは約20nM未満、19nM未満もしくは約19nM未満、18nM未満もしくは約18nM未満、17nM未満もしくは約17nM未満、16nM未満もしくは約16nM未満、15nM未満もしくは約15nM未満、14nM未満もしくは約14nM未満、13nM未満もしくは約13nM未満、12nM未満もしくは約12nM未満、11nM未満もしくは約11nM未満、または10nM未満もしくは約10nM未満、あるいは9nM未満もしくは約9nM未満、8nM未満もしくは約8nM未満、7nM未満もしくは約7nM未満、6nM未満もしくは約6nM未満、または5nM未満もしくは約5nM未満のIC₅₀で、提供される抗体の結合を阻害する。いくつかの態様において、提供さ

れる抗体による参照抗体の結合の競合阻害（またはその逆）は、参照抗体そのもの（例えば非標識参照抗体）による参照抗体の結合の競合阻害の度合いと、同じもしくはほぼ同じまたは少なくとも同じもしくは少なくともほぼ同じ度合いである。いくつかの態様において、提供される抗体は、ヒトROR1に対する参照抗体の結合（例えばR12 scFvの結合）を、少なくとも、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%阻害する。

【0302】

本明細書において提供される抗ROR1抗体は、その物理的/化学的特性および/または生物学的活性について種々の公知のアッセイによって同定、スクリーニングまたは特性評価され得る。一局面において、該抗体はその抗原結合活性について、例えば、ELISA、ウエスタンブロッティングおよび/またはフローサイトメトリーアッセイ、例えば細胞ベースの結合アッセイ、例えば標的抗原、例えばROR1を発現する細胞に対する抗体（例えば、蛍光マーカーにコンジュゲートさせるか、またはタグ化する）の結合を、いくつかの場合では標的抗原、例えばROR1を発現しない細胞または異なる抗原、例えばROR2を発現する細胞を用いた結果と比べて評価することなどの公知の方法によって試験される。結合親和性は K_D 、 K_A または EC_{50} として測定され得る。

【0303】

3. バリエーション

一部の特定の態様において、該抗体は、本明細書に記載の抗体の配列と比べて1つまたは複数のアミノ酸多様性、例えば置換、欠失、挿入および/または変異を含む。例示的なバリエーションとしては、抗体の結合親和性および/または他の生物学的特性が改善されるように設計されたものが挙げられる。抗体のアミノ酸配列バリエーションは、該抗体をコードするヌクレオチド配列内に適切な改変を導入することにより、またはペプチド合成によって調製され得る。かかる改変としては、例えば、抗体のアミノ酸配列内からの残基の欠失および/または抗体のアミノ酸配列内への残基の挿入および/または抗体のアミノ酸配列における残基の置換が挙げられる。最終構築物に到達するために任意の組合せの欠失、挿入および置換が行なわれ得るが、最終構築物は所望の特徴、例えば抗原結合性を有しているものとする。

【0304】

一部の特定の態様において、該抗体は、例えば、本明細書に記載の抗体配列と比べて、および/または天然のレパートリー、例えばヒトレパートリーの配列と比べて1つまたは複数のアミノ酸置換を含む。置換変異誘発の関心対象の部位としてはCDRおよびFRが挙げられる。アミノ酸置換が関心対象の抗体内に導入され、産物が所望の活性、例えば、抗原結合の保持/改善、免疫原性の低下、半減期の改善および/またはエフェクター機能、例えば抗体依存性細胞傷害性（ADCC）もしくは補体依存性細胞傷害性（CDC）を促進させる能力の改善についてスクリーニングされ得る。

【0305】

いくつかの態様において、親抗体（例えばヒト化抗体またはヒト抗体）のCDRにおける1つまたは複数の残基が置換される。いくつかの態様において、置換は、例えばヒト対象への投与の際に例えば免疫原性の尤度を低下させるために配列または配列内の位置を生殖系列に由来する配列に、例えば生殖系列（例えば、ヒト生殖系列）にみられる抗体配列に戻すために行なわれる。

【0306】

いくつかの態様において、改変は、体細胞の成熟過程で高頻度に変異を受けるコドンによってコードされるCDR「ホットスポット」残基（例えばChowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196（2008）参照）および/または抗原と接触する残基において行なわれ、得られたバリエーション V_H または V_L が結合親和性について試験される。二次ライブラリーの構築およびこのライブラリーからの再選択による親和性成熟は、例えばHoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178: 1-37 (O' Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)) において報告されている。親和性成熟のいくつかの態様にお

10

20

30

40

50

いて、多様性が、成熟のために選出された可変部遺伝子内に様々な方法のいずれか（例えば、エラープローンPCR、鎖シャッフリングまたはオリゴヌクレオチド特異的変異誘発）によって導入される。次いで二次ライブラリーが生成される。次いで、このライブラリーがスクリーニングされ、所望の親和性を有する抗体バリエーションがあれば、それが同定される。多様性を導入するための別の方法は、いくつかのCDR残基（例えば、一度に4～6残基）にランダム変異導入（randomize）されるCDR特異的アプローチを伴う。抗原結合に關与するCDR残基は、例えばアラニンスキャニング変異誘発またはモデリングを用いて特異的に同定され得る。多くの場合、特にCDR-H3およびCDR-L3が標的とされる。

【0307】

一部の特定の態様において、置換、挿入または欠失は、かかる改変が抗体の抗原結合能力を実質的に低下させない限り1つまたは複数のCDRにおいて行なわれ得る。例えば、結合親和性を実質的に低下させない保存的改変（例えば、本明細書において提供される保存的置換）がCDRにおいて行なわれ得る。かかる改変は、例えばCDR内の抗原接触残基外であり得る。上記において提供するバリエーションV_H配列およびバリエーションV_L配列の一部の特定の態様において、各CDRは未改変状態であるか、または含まれるアミノ酸置換が1つ以下、2つもしくは3つであるかのいずれかである。

【0308】

アミノ酸配列挿入体としては、長さが1残基から100個もしくはそれより多くの残基を含むポリペプチドまでの範囲のアミノ末端融合体および/またはカルボキシル末端融合体、ならびに1つもしくは複数のアミノ酸残基の配列内挿入体が挙げられる。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入バリエーションとしては、抗体のN末端またはC末端と該抗体の血清半減期を長くする酵素またはポリペプチドとの融合体が挙げられる。

【0309】

4. 改変

一部の特定の態様において、該抗体は、該抗体がグリコシル化される程度を増大または低減させるために、例えば、アミノ酸配列を改変することによって1つまたは複数のグリコシル化部位を除去または挿入することにより、および/またはグリコシル化部位に結合しているオリゴ糖部を例えば特定の細胞株を用いて改変することにより改変される。

【0310】

いくつかの態様において、コンセンサス配列-Asn-Xaa-Ser/Thrにおけるアスパラギンに存在するグリコシル化部位であるN結合型グリコシル化部が除去または挿入される。いくつかの態様では、グリコシル化部位を除去するために1つまたは複数の別のアミノ酸で置き換えられる。

【0311】

例示的な改変、バリエーションおよび細胞株は、例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号、同第2004/0093621号、同第2003/0157108号；WO2000/61739；WO2001/29246；US2003/0115614；US2002/0164328；US2004/0093621；US2004/0132140；US2004/0110704；US2004/0110282；US2004/0109865；WO2003/085119；WO2003/084570；WO2005/035586；WO2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)；米国特許出願公開第2003/0157108A1、Presta, L；およびWO2004/056312A1、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)；Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94 (4): 680-688 (2006)；およびWO2003/085107)；WO2003/011878 (Jean-Mairet et al.)；米国特許第6,602,684号 (Umana et al.)；およびUS2005/0123546 (Umana et al.)；WO1997/30087 (Patel et al.)；WO1998/58964 (Raju, S.)；およびWO1999/22764 (Raju, S.)に記載されている。

【0312】

改変型抗体の中には、Fc領域内に1つまたは複数のアミノ酸改変を有するもの、例えば1つまたは複数のアミノ酸位置にアミノ酸改変（例えば置換）を含むヒトFc領域配列または定常領域の他の部分（例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3もしくはIgG4のFc領域）を有するものがある。

【0313】

かかる改変は、例えば半減期を改善するため、1つもしくは複数の型のFc受容体への結合を改変するため、および/またはエフェクター機能を改変するために行なわれ得る。

【0314】

また、前記バリエーションの中には、例えば薬剤同士およびリンカー-薬剤のコンジュゲーションにおける使用に利用可能な部位に反応性チオール基を生成させ、イムノコンジュゲートを作製するために、抗体における1つまたは複数の残基がシステイン残基で置換されているシステイン改変抗体、例えば“thioMAb”および他のシステイン改変バリエーションがある。システイン改変抗体は、例えば米国特許第7,855,275号および同第7,521,541号に記載されている。

【0315】

いくつかの態様において、該抗体は、追加の非タンパク質様部分、例えば水溶性ポリマーを含むように修飾される。例示的なポリマーとしては、非限定的に、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1、3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーもしくはランダムコポリマーのいずれか）およびデキストランまたはポリ（n-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコールならびにその混合物が挙げられる。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中での安定性のため製造において利点を有し得る。ポリマーは任意の分子量のものであり得、分枝鎖であっても非分枝鎖であってもよい。抗体に結合させるポリマーの数は種々であり得、1つより多くのポリマーを結合させる場合、これらは同じ分子であっても異なる分子であってもよい。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および/または型は、例えば非限定的に、改善対象の抗体の特定の特性または機能、抗体の誘導体が規定の条件下での治療に使用されるかどうかなどの考慮事項に基づいて決定され得る。

【0316】

B. イムノコンジュゲート

いくつかの態様において、該抗体は、該抗体が1つまたは複数の異種分子、例えば非限定的に細胞傷害剤またはイメージング剤にコンジュゲートされているイムノコンジュゲートであるか、あるいは該イムノコンジュゲートの一部である。細胞傷害剤としては、非限定的に、放射性同位体（例えば、At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²およびLuの放射性同位体）；化学療法剤（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルビシンまたは他のインターカレート剤）；成長阻害剤；酵素およびその断片、例えば核酸分解酵素；抗生物質；毒素、例えば小分子毒素または酵素活性毒素が挙げられる。いくつかの態様において、該抗体は、1つまたは複数の細胞傷害剤、例えば化学療法剤もしくは化学療法薬、成長阻害剤、毒素（例えば、タンパク質毒素、細菌起源、真菌起源、植物起源あるいは動物起源の酵素活性毒素もしくはその断片）または放射性同位体にコンジュゲートされる。

【0317】

イムノコンジュゲートの中には、抗体が、1種類または複数種の薬物、例えば非限定的にメイタンシノイド（米国特許第5,208,020号、同第5,416,064号および欧州特許EP0425235B1参照）；アウリスタチン、例えばモノメチルアウリスタチン薬物部分DEおよび

10

20

30

40

50

DF (MMAEおよびMMAF) (米国特許第5,635,483号および同第5,780,588号および同第7,498,298号参照) ; ドラスタチン ; カリケアミシンまたはその誘導体 (米国特許第5,712,374号、同第5,714,586号、同第5,739,116号、同第5,767,285号、同第5,770,701号、同第5,770,710号、同第5,773,001号および同第5,877,296号 ; Hinman et al., Cancer Res. 53: 3336-3342 (1993) ; ならびにLode et al., Cancer Res. 58: 2925-2928 (1998)参照) ; アントラサイクリン、例えばダウノマイシンまたはドキソルビシン (Kratz et al., Current Med. Chem. 13: 477-523 (2006) ; Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16: 358-362 (2006) ; Torgov et al., Bioconj. Chem. 16: 717-721 (2005) ; Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 829-834 (2000) ; Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12: 1529-1532 (2002) ; King et al., J. Med. Chem. 45: 4336-4343 (2002) ; および米国特許第6,630,579号参照) ; メトトレキサート ; ビンデシン ; ダキサン、例えばドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセルおよびオルタタキセル ; トリコテシン ; ならびにCC 1065にコンジュゲートされている、抗体-薬物コンジュゲート (ADC) がある。

【0318】

また、イムノコンジュゲートの中には、該抗体が、酵素活性毒素またはその断片、例えば非限定的に、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合性活性断片、外毒素A鎖 (緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 由来)、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデクシンA鎖、 α -サルシン、シナアブラギリ (*Aleurites fordii*) タンパク質、ジアンチン (*dianthin*) タンパク質、ヨウシュヤマゴボウ (*Phytolacca americana*) タンパク質 (PAPI、PAPIIおよびPAP-S)、ニガウリ由来インヒビター、クルシン、クロチン、サパオナリア・オフィシナリス (*sapaonaria officinalis*) 由来インヒビター、ゲロニン、ミトゲリン (*mitogellin*)、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン (*enomycin*) ならびにトリコテセン類にコンジュゲートされている、イムノコンジュゲートがある。

【0319】

また、イムノコンジュゲートの中には、該抗体が放射性原子にコンジュゲートされて放射性コンジュゲートを形成しているものがある。例示的な放射性同位体としては、 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} およびLuの放射性同位体が挙げられる。

【0320】

抗体と細胞傷害剤のコンジュゲートは、いくつかの公知のタンパク質カップリング剤のいずれか、例えばリンカー、(Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987)、WO94/11026参照) を用いて作製され得る。リンカーは、細胞内への細胞傷害薬の放出を容易にする「切断可能リンカー」、例えば酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、光分解性リンカー、ジメチルリンカーおよびジスルフィド含有リンカー (Chari et al., Cancer Res. 52: 127-131 (1992) ; 米国特許第5,208,020号) であり得る。

【0321】

C. 多重特異性抗体

一部の特定の態様において、ROR1結合分子、例えば抗体またはこれを含むポリペプチド、例えばキメラ受容体は多重特異性である。多重特異性結合分子の中には、多重特異性抗体、例えば二重特異性がある。多重特異性の結合パートナー、例えば抗体は、同じ抗原内であっても異なる抗原内であってもよい少なくとも2つの異なる部位に対する結合特異性を有する。一部の特定の態様において、一方の結合特異性はROR1に対するものであり、他方は別の抗原に対するものである。一部の特定の態様において、二重特異性抗体はROR1の2つの異なるエピトープに結合し得る。また、二重特異性抗体は、ROR1を発現する細胞に細胞傷害剤を局在させるために使用され得る。二重特異性抗体は完全長抗体または抗体断片として調製され得る。多重特異性抗体の中には、多重特異性一本鎖抗体、例えばダイアボディ、トリアボディおよびテトラボディ、タンデムジ-scFvおよびタンデムトリ-scFvがある。また、該抗体を含む多重特異性キメラ受容体、例えば多重特異性CARが提供される。また、該抗体を含むか、または該抗体を含むポリペプチドを含む多重特異性細胞

、例えば、細胞表面タンパク質、例えば抗ROR1抗体および異なる抗原またはROR1上の異なるエピトープに結合する追加の細胞表面タンパク質、例えば追加のキメラ受容体を含む細胞が提供される。

【0322】

例示的な追加の抗原としては、B細胞特異的抗原、他の腫瘍特異的抗原（例えば、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫、マントル細胞リンパ腫（MCL）、非小細胞肺癌（NSCLC）、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、膵癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌および/もしくは頭頸部癌において特異的に発現されるかまたはそれらに関連する抗原）、ならびにT細胞上に発現される抗原が挙げられる。例示的な抗原としては、CD4、CD5、CD8、CD14、CD15、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD33、CD37、CD38、CD40、CD40L、CD46、CD52、CD54、CD74、CD80、CD126、CD138、B7、MUC-1、Ia、HM1.24、HLA-D R、テネイシン、血管新生因子、VEGF、PIGF、ED-B フィブロネクチン、癌遺伝子、癌遺伝子産物、CD66a-d、壊死抗原、Ii、IL-2、T101、TAC、IL-6、TRAIL-R1（DR4）、およびTRAIL-R2（DR5）が挙げられる。

【0323】

D. 組換え受容体

提供される結合分子、例えばROR1結合分子の中には、細胞表面タンパク質、例えば組換え受容体、例えば、提供される抗体または抗原結合断片のうちの1種類を含むものがある。また、かかる細胞表面タンパク質、例えば受容体の全部または一部分をコードするポリヌクレオチドが提供される。該受容体としては、ROR1に特異的に結合する抗原受容体および他のキメラ受容体、例えば、提供される抗ROR1抗体、例えば抗原結合断片を含む受容体が挙げられる。該抗原受容体の中には、機能性の非TCR抗原受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）がある。ROR1結合受容体は概して、ROR1、例えばROR1タンパク質、例えばヒトROR1タンパク質に特異的に結合する抗体（例えば、抗原結合断片）および/または他の結合ペプチドを含む。また、該組換え受容体を発現する細胞、かかる細胞を含む組成物ならびに養子細胞療法、例えばROR1の発現と関連している疾患および障害の治療におけるその使用、その組成物および製造物品および使用が提供される。

【0324】

提供されるポリヌクレオチドの中には、ROR1に特異的に結合する組換え受容体、例えば抗原受容体をコードするものがある。いくつかの局面において、コードされている受容体、例えばROR1結合ポリペプチドを含むもの、ならびにその組成物および製造物品および使用もまた提供される。提供されるポリヌクレオチドは、構築物、例えばデオキシリボ核酸（DNA）構築物またはRNA構築物内に、例えば、コードされている組換えROR1結合受容体の発現のために細胞内に導入され得るものに組み込まれ得る。

【0325】

1. 例示的な受容体

提供されるROR1結合細胞表面タンパク質（例えば受容体）は、概して、細胞外抗原結合ドメインおよび細胞内シグナル伝達領域を含む。提供される受容体（例えば組換え受容体）の中には、提供される抗体またはその抗原結合断片、例えば提供される抗ROR1抗体またはその断片のうちの1つまたは複数を含むポリペプチドがある。いくつかの態様において、提供される細胞表面タンパク質は、ROR1（例えばヒトROR1）に特異的に結合する。

【0326】

抗原受容体の中には、キメラおよび/または機能性の非TCR抗原受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）がある。このキメラ受容体（例えばCAR）は、概して、抗ROR1抗体（例えば本明細書に記載の抗ROR1抗体もしくはその断片）を含むか、それであるか、またはそれで構成される、細胞外抗原結合ドメインを含む。いくつかの態様において、キメラ

受容体（例えばCAR）は細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、キメラ受容体はまた、スパーサーおよび/または膜貫通ドメインも含む。いくつかの態様において、スパーサーは、細胞外抗原結合ドメインと膜貫通ドメインの間に位置する。いくつかの態様において、CARは、細胞外抗原結合ドメイン、スパーサー、膜貫通領域、および細胞内シグナル伝達領域を含む。例示的な本明細書において提供されるCARとしては、本明細書、例えばセクションI.Aおよび/または表2に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、あるいは本明細書のセクションI.D、表3および/または表E1に記載のものを含む抗原結合ドメインを含むものが挙げられる。また、本明細書のセクションI.E、表3および/または表E1に記載のポリヌクレオチドによってコードされるCARが提供される。

【0327】

いくつかの場合において、CARは、第1、第2、および/または第3世代のCARと称される。いくつかの局面において、第1世代CARは、抗原に結合するとCD3鎖誘導性シグナルをもたらすだけのものであり；いくつかの局面において、第2世代CARは、かかるシグナルと共刺激シグナルをもたらすもの、例えば共刺激受容体、例えばCD28またはCD137に由来する細胞内シグナル伝達ドメインを含むものであり；いくつかの局面において、いくつかの局面における第3世代CARは、いくつかの局面において異なる共刺激受容体の複数の共刺激ドメインを含むものである。

【0328】

いくつかの態様において、CARは、いくつかの場合では、ROR1に結合する抗体（例えば抗体断片）を含む、細胞外抗原結合ドメイン；CD28の膜貫通部分もしくはその機能性バリエーションであるかまたはそれを含む、膜貫通ドメイン；およびCD28のシグナル伝達部分またはその機能性バリエーションとCD3ζのシグナル伝達部分またはその機能性バリエーションとを含む、細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、CARは、いくつかの場合では、ROR1に結合する抗体（例えば抗体断片）を含む、細胞外抗原結合ドメイン；CD28の膜貫通部分もしくはその機能性バリエーションであるかまたはそれを含む、膜貫通ドメイン；および4-1BBのシグナル伝達部分またはその機能性バリエーションとCD3ζのシグナル伝達部分またはその機能性バリエーションとを含む、細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかのかかる態様において、該受容体は、Ig分子（例えばヒトIg分子）の一部（例えばIgヒンジ、例えばIgG4ヒンジ）を含むスパーサー、例えばヒンジのみからなるスパーサーをさらに含む。

【0329】

いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、本明細書に記載の抗体またはその断片を含む細胞外部分を含む。いくつかの局面において、キメラ抗原受容体は、本明細書に記載の抗体またはその断片を含む細胞外部分と細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、該抗体またはその断片はscFvを含み、細胞内シグナル伝達領域はITAMを含む。いくつかの局面において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3-ゼータ（CD3ζ）鎖のゼータ鎖のシグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、細胞外ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを連結している膜貫通ドメインを含む。

【0330】

他の例示的な抗原受容体（例えばCAR）ならびに改変および細胞へのかかる抗原受容体の導入のための方法としては、例えばWO200014257、WO2013126726、WO2012/129514、WO2014031687、WO2013/166321、WO2013/071154、WO2013/123061 米国特許出願公開第2002131960号、同第2013287748号、同第20130149337号、米国特許第6,451,995号、同第7,446,190号、同第8,252,592号、同第8,339,645号、同第8,398,282号、同第7,446,179号、同第6,410,319号、同第7,070,995号、同第7,265,209号、同第7,354,762号、同第7,446,191号、同第8,324,353号および同第8,479,118号、ならびに欧州特許出願公開第EP2537416号に記載のもの、および/またはSadelain et al., Cancer Discov. 2013 April; 3 (4): 388-398; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8 (4): e61338; Turtle et al., Curr. Opin. Immunol., 2012 Oc

10

20

30

40

50

tober; 24 (5): 633-39 ; Wu et al., Cancer, 2012 March 18 (2): 160-75に記載のものが挙げられる。いくつかの局面において、抗原受容体としては、米国特許第7,446,190号に記載のCARおよびWO/2014055668A1に記載のものが挙げられる。例示的なCARとしては、前述の刊行物のいずれか、例えばWO2014031687、US8,339,645、US7,446,179、US2013/0149337、米国特許第7,446,190号、米国特許第8,389,282号に開示されているようなCARであって、例えば、抗原結合部分、例えばscFvが例えば本明細書において提供される抗体で置き換えられているCARが挙げられる。

【0331】

ROR1を標的とする他のCARは、例えば、Hudecek et al., Clin Cancer Res, 19 (12), 3153-3164 (2013)およびBaskar et al. MAbs. 4 (3): 349-361 (2012)によって報告されている。また、WO2014031687 ; US2012/20058051も参照のこと。

【0332】

a. 細胞外抗原結合ドメイン

キメラ受容体の中には、キメラ抗原受容体 (CAR) がある。キメラ受容体 (例えばCAR) は、概して、提供される抗ROR1抗体または抗原結合断片のうちの1つまたは複数を含むか、それらであるか、あるいはそれらに含まれる、細胞外抗原結合ドメインを含む。したがって、キメラ受容体 (例えばCAR) は、典型的には、その細胞外部分に、1つまたは複数のROR1結合分子、例えば1つもしくは複数の抗原結合断片、抗原結合ドメインもしくは抗原結合部分あるいは1つもしくは複数の抗体可変ドメインおよび/または抗体分子、例えば本明細書に記載のものを含む。いくつかの態様において、CARは、抗体分子のROR1結合部分、例えば抗体の可変部重 (V_H) 鎖領域および/または可変部軽 (V_L) 鎖領域、例えばscFvを含む。いくつかの態様において、CARは、抗体分子のROR1結合部分、例えば抗体の可変部重 (V_H) 鎖領域と可変部軽 (V_L) 鎖領域、例えばscFvを含む。いくつかの局面において、CARは、本明細書、例えばセクションI.Aに記載のROR1結合抗体またはその抗原結合断片のいずれかの1つまたは複数を含む。

【0333】

いくつかの態様において、表2は、提供されるROR1結合受容体、例えば抗ROR1キメラ抗原受容体 (CAR) 内に含められ得る例示的な抗原結合ドメイン、例えば抗体または抗原結合断片SEQ ID NO:を示す。いくつかの局面において、CARは、表2に記載のscFvを、例えば細胞外抗原結合ドメインの一部として含む。いくつかの局面において、CARは、表2に記載のV_H領域を、例えば細胞外抗原結合ドメインの一部として含む。いくつかの局面において、CARは、表2に記載のV_L領域を、例えば細胞外抗原結合ドメインの一部として含む。いくつかの態様において、ROR1結合受容体は、表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3の配列を含むV_H領域ならびにCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列を含むV_L領域を含むROR1結合抗体またはその断片を含む。いくつかの態様において、ROR1結合受容体は、表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるV_H領域配列およびV_L領域配列を含むROR1結合抗体またはその断片あるいは表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるV_H領域配列およびV_L領域配列に対して、少なくとも、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するV_H領域アミノ酸配列およびV_L領域アミノ酸配列を含む抗体を含む。いくつかの態様において、ROR1結合受容体は、表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるV_H領域配列およびV_L領域配列を含むROR1結合抗体またはその断片を含む。いくつかの態様において、ROR1結合受容体は、表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるscFv配列を含むROR1結合抗体またはその断片あるいは表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるscFv配列に対して、少なくとも、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するscFvのアミノ酸配列を含む抗体を含む。いくつかの態様において、ROR1結合受容体は、表2の各行に列記したSEQ ID NO:に示されるscFv配列を含むROR1結合抗体またはその断片を含む。

【0334】

いくつかの態様において、提供されるCARは、抗体、例えばポリクローナル抗体および

モノクローナル抗体の全部または一部分、例えばインタクトな抗体および機能性（抗原結合）抗体断片、例えば抗原結合断片（fragment antigen binding）（Fab）断片、F（a b'）2断片、Fab'断片、Fv断片、組換えIgG（rIgG）断片、抗原に特異的に結合することができる重鎖可変（V_H）領域、一本鎖抗体断片、例えば一本鎖可変断片（scFv）およびシングルドメイン抗体（例えば、sdAb、sdFv、ナノボディ）断片を含む細胞外抗原結合ドメインを含み得る。いくつかの局面において、CAR内に含められる該抗体またはその断片としては、遺伝子改変および/または他の方法で改変された形態の免疫グロブリン、例えばイントラボディ、ペプチボディ、キメラ抗体、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、ならびにヘテロコンジュゲート抗体、多重特異性、例えば二重特異または三重特異性抗体、ダイアボディ、トリアボディおよびテトラボディ、タンデムジ-scFv、タンデムトリ-scFvが挙げられる。

10

【0335】

b. スペーサー

いくつかの態様において、組換え受容体、例えばCAR、例えばその抗体部分は、スペーサー（いくつかの場合では、スペーサー領域とも称される）をさらに含み、該スペーサーは、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションもしくは改変型、例えばヒンジ領域（例えばIgG4ヒンジ領域）、ならびに/またはC_H1/C_L、C_H2、および/もしくはC_H3、ならびに/またはFc領域であってもよいし、それらを含んでもよい。いくつかの態様において、該定常領域または部分は、ヒトIgG（例えば、IgG4、IgG2、またはIgG1）のものである。いくつかの局面において、該定常領域の該部分は、抗原認識構成要素（例えばscFv）と膜貫通ドメインとの間のスペーサーとしての機能を果たす。

20

【0336】

いくつかの態様において、スペーサーの長さは、CAR発現細胞（例えばCARを発現する細胞）とCARの標的（例えばROR1を発現する腫瘍細胞）との間の生物物理学的シナプス間隔が最適となるように調整される。いくつかの態様において、CARはT細胞によって発現され、スペーサーの長さは、T細胞の活性化に適した長さ、またはCAR T細胞の性能を最適にするための長さに調整される。

【0337】

いくつかの態様において、スペーサーは、スペーサーなしの場合と比べて、または異なる長さ（例えば、より長い長さ）の別のスペーサーと比べて、抗原結合後に高い細胞応答性をもたらす長さのものであり得る。いくつかの例において、スペーサーは、12もしくは約12アミノ酸長であるか、または12もしくは約12アミノ酸長以下である。いくつかの例において、スペーサーは、15もしくは約15アミノ酸長であるか、または15もしくは約15アミノ酸長以下である。

30

【0338】

例示的なスペーサーとしては、少なくとも、10もしくは約10アミノ酸長～300もしくは約300アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～229もしくは約229アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～200もしくは約200アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～175もしくは約175アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～150もしくは約150アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～125もしくは約125アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～100もしくは約100アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～75もしくは約75アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～50もしくは約50アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～40もしくは約40アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～30もしくは約30アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～20もしくは約20アミノ酸長、または10もしくは約10アミノ酸長～15もしくは約15アミノ酸長を有するものが挙げられ、列記した範囲のいずれかの端点間の任意の整数が含まれる。例示的なスペーサーとしては、少なくとも、50もしくは約50アミノ酸長～175もしくは約175アミノ酸長、50もしくは約50アミノ酸長～150もしくは約150アミノ酸長、10もしくは約10アミノ酸長～125もしくは約125アミノ酸長、50もしくは約50アミノ酸長～100もしくは約100アミノ酸長、100もしくは約100アミノ酸長～300もしくは約300アミノ酸長、100もしくは約100

40

50

0アミノ酸長～250もしくは約250アミノ酸長、125もしくは約125アミノ酸長～250もしくは約250アミノ酸長、または200もしくは約200アミノ酸長～250もしくは約250アミノ酸長を有するものが挙げられ、列記した範囲のいずれかの端点間の任意の整数が含まれる。いくつかの態様において、スペーサーは、少なくとも12もしくは約12アミノ酸長、少なくとも119もしくは約119アミノ酸長、少なくとも125もしくは約125アミノ酸長、少なくとも200もしくは約200アミノ酸長、または少なくとも220もしくは約220アミノ酸長、または少なくとも225もしくは約225アミノ酸長である。いくつかの態様において、スペーサーは、少なくとも13もしくは約13アミノ酸長、少なくとも120もしくは約120アミノ酸長、少なくとも125もしくは約125アミノ酸長、少なくとも200もしくは約200アミノ酸長、少なくとも220もしくは約220アミノ酸長、または少なくとも229もしくは約229アミノ酸長である。いくつかの態様において、スペーサーは、11もしくは約11アミノ酸長、12もしくは約12アミノ酸長、13もしくは約13アミノ酸長、14もしくは約14アミノ酸長、15もしくは約15アミノ酸長、16もしくは約16アミノ酸長、17もしくは約17アミノ酸長、18もしくは約18アミノ酸長、19もしくは約19アミノ酸長、20もしくは約20アミノ酸長、21もしくは約21アミノ酸長、22もしくは約22アミノ酸長、23もしくは約23アミノ酸長、24もしくは約24アミノ酸長、25もしくは約25アミノ酸長、またはそれより少ない長さである。いくつかの態様において、スペーサーは、少なくとも100もしくは約100アミノ酸長、例えば、少なくとも110もしくは約110アミノ酸長、少なくとも111もしくは約111アミノ酸長、少なくとも112もしくは約112アミノ酸長、少なくとも113もしくは約113アミノ酸長、少なくとも114もしくは約114アミノ酸長、少なくとも115もしくは約115アミノ酸長、少なくとも116もしくは約116アミノ酸長、少なくとも117もしくは約117アミノ酸長、少なくとも118もしくは約118アミノ酸長、少なくとも119もしくは約119アミノ酸長、少なくとも120もしくは約120アミノ酸長、少なくとも121もしくは約121アミノ酸長、少なくとも122もしくは約122アミノ酸長、少なくとも123もしくは約123アミノ酸長、少なくとも124もしくは約124アミノ酸長、少なくとも125もしくは約125アミノ酸長、少なくとも130もしくは約130アミノ酸長、少なくとも135もしくは約135アミノ酸長、少なくとも140もしくは約140アミノ酸長、少なくとも145もしくは約145アミノ酸長、少なくとも150もしくは約150アミノ酸長、少なくとも160もしくは約160アミノ酸長、少なくとも170もしくは約170アミノ酸長、少なくとも180もしくは約180アミノ酸長、少なくとも190もしくは約190アミノ酸長、少なくとも200もしくは約200アミノ酸長、少なくとも210もしくは約210アミノ酸長、少なくとも220もしくは約220アミノ酸長、少なくとも230もしくは約230アミノ酸長、少なくとも240もしくは約240アミノ酸長、または少なくとも250もしくは約250アミノ酸長である。

【0339】

いくつかの態様において、スペーサーは、少なくとも125もしくは約125アミノ酸長～300もしくは約300アミノ酸長、125もしくは約125アミノ酸長～250もしくは約250アミノ酸長、125もしくは約125アミノ酸長～230もしくは約230アミノ酸長、125もしくは約125アミノ酸長～200もしくは約200アミノ酸長、125もしくは約125アミノ酸長～180もしくは約180アミノ酸長、125もしくは約125アミノ酸長～150もしくは約150アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長～300もしくは約300アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長～250もしくは約250アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長～230もしくは約230アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長～200もしくは約200アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長～180もしくは約180アミノ酸長、180もしくは約180アミノ酸長～300もしくは約300アミノ酸長、180もしくは約180アミノ酸長～250もしくは約250アミノ酸長、180もしくは約180アミノ酸長～230もしくは約230アミノ酸長、180もしくは約180アミノ酸長～200もしくは約200アミノ酸長、200もしくは約200アミノ酸長～300もしくは約300アミノ酸長、200もしくは約200アミノ酸長～250もしくは約250アミノ酸長、200もしくは約200アミノ酸長～230もしくは約230アミノ酸長、230もしくは約230アミノ酸長～300もしくは約300アミノ酸長、230もしくは

は約230アミノ酸長～250もしくは約250アミノ酸長、または250アミノ酸長～300もしくは約300アミノ酸長である。いくつかの態様において、スペーサーは、少なくとも129もしくは約129アミノ酸長、130もしくは約130アミノ酸長、140もしくは約140アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長、160もしくは約160アミノ酸長、170もしくは約170アミノ酸長、180もしくは約180アミノ酸長、190もしくは約190アミノ酸長、200もしくは約200アミノ酸長、210もしくは約210アミノ酸長、220もしくは約220アミノ酸長、221もしくは約221アミノ酸長、222もしくは約222アミノ酸長、223もしくは約223アミノ酸長、224もしくは約224アミノ酸長、225もしくは約225アミノ酸長、226もしくは約226アミノ酸長、227もしくは約227アミノ酸長、228もしくは約228アミノ酸長、229もしくは約229アミノ酸長、または230もしくは約230アミノ酸長、あるいは前記のもののいずれかの間の長さである。

10

【0340】

例示的なスペーサーとしては、IgGヒンジのみ、 C_H2 ドメインおよび C_H3 ドメインの1つもしくは複数に連結されたIgGヒンジ、または C_H3 ドメインに連結されたIgGヒンジが挙げられる。いくつかの態様において、スペーサーはIgGヒンジのみを含む。いくつかの態様において、IgGヒンジ、 C_H2 および/または C_H3 は、全部または一部がIgG4またはIgG2に、例えば全部または一部がヒトIgG4またはヒトIgG2に由来し得る。いくつかの態様において、スペーサーは、IgG4、IgG2および/またはIgG2とIgG4に由来するヒンジ、 C_H2 および/または C_H3 の配列の1つまたは複数を含むキメラポリペプチドであり得る。いくつかの態様において、ヒンジ領域は、IgG4ヒンジ領域の全部または一部分を含む。いくつかの態様において、ヒンジ領域は、IgG4ヒンジ領域および/またはIgG2ヒンジ領域の全部または一部分を含み、該IgG4ヒンジ領域は任意でヒトIgG4ヒンジ領域であり、該IgG2ヒンジ領域は任意でヒトIgG2ヒンジ領域であり； C_H2 領域は、IgG4 C_H2 領域および/またはIgG2 C_H2 領域の全部または一部分を含み、該IgG4 C_H2 領域は任意でヒトIgG4 C_H2 領域であり、該IgG2 C_H2 領域は任意でヒトIgG2 C_H2 領域であり；かつ/あるいは C_H3 領域は、IgG4 C_H3 領域および/またはIgG2 C_H3 領域の全部または一部分を含み、該IgG4 C_H3 領域は任意でヒトIgG4 C_H3 領域であり、該IgG2 C_H3 領域は任意でヒトIgG2 C_H3 領域である。いくつかの態様において、ヒンジ、 C_H2 、および C_H3 は、IgG4に由来する、ヒンジ領域、 C_H2 、および C_H3 の各々の全部または一部分を含む。いくつかの態様において、ヒンジ領域は、キメラであり、かつヒトIgG4およびヒトIgG2に由来するヒンジ領域を含み； C_H2 領域は、キメラであり、かつヒトIgG4およびヒトIgG2に由来する C_H2 領域を含み；かつ/または C_H3 領域は、キメラであり、かつヒトIgG4およびヒトIgG2に由来する C_H3 領域を含む。いくつかの態様において、スペーサーは、IgG4/2キメラヒンジ、またはヒトIgG4ヒンジ領域と比べて少なくとも1つのアミノ酸置換を含む改変型IgG4ヒンジ；ヒトIgG2/4キメラ C_H2 領域；およびヒトIgG4 C_H3 領域を含む。

20

30

【0341】

いくつかの態様において、スペーサーは、免疫グロブリンヒンジまたはその改変型の全部または一部分を含むか、あるいは免疫グロブリンヒンジまたはその改変型の全部または一部分からなる。いくつかの態様において、スペーサーは、15アミノ酸長以下または約15アミノ酸長以下である。いくつかの態様において、スペーサーは、免疫グロブリンヒンジ（任意でIgG4ヒンジ）もしくはその改変型の全部もしくは一部分を含むか、またはそれからなり、かつ/あるいは約15個またはそれより少ないアミノ酸を含む。いくつかの態様において、スペーサーは、13または約13アミノ酸長であり、かつ/または免疫グロブリンヒンジ（任意でIgG4型）もしくはその改変型の全部もしくは一部分を含むか、またはそれからなる。いくつかの態様において、スペーサーは、12または約12アミノ酸長であり、かつ/または免疫グロブリンヒンジ（任意でIgG4型）もしくはその改変型の全部もしくは一部分を含むか、またはそれからなる。いくつかの態様において、スペーサーは、SEQ ID NO:1、26、27、28、29、31、32、33、もしくは135の配列、または該配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性を有する前記のもの

40

50

のいずれかのバリエーションを含むか、あるいはそれからなる。いくつかの態様において、スパーサーは、式 X_1PPX_2P (SEQ ID NO:25) を含み、式中、 X_1 はグリシン、システインまたはアルギニンであり、 X_2 はシステインまたはトレオニンである。いくつかの態様において、スパーサーは、CD28細胞外領域またはCD8細胞外領域を含まない。一部の特定の場合において、スパーサーは、C末端にメチオニン残基を有する。

【0342】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:1に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:2または30によって、あるいはSEQ ID NO:2または30に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:30によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

10

【0343】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:135に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:192または136によって、あるいはSEQ ID NO:192または136に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:136によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

20

30

【0344】

いくつかの態様において、スパーサーは、例えばヒト免疫グロブリン（例えばIgG4および/もしくはIgG2）の C_H3 ドメインに連結されたIgGヒンジであるか、またはそれを含む。いくつかの局面において、スパーサーは、111もしくは約111アミノ酸長、112もしくは約112アミノ酸長、113もしくは約113アミノ酸長、114もしくは約114アミノ酸長、115もしくは約115アミノ酸長、116もしくは約116アミノ酸長、117もしくは約117アミノ酸長、118もしくは約118アミノ酸長、119もしくは約119アミノ酸長、120もしくは約120アミノ酸長、121もしくは約121アミノ酸長、122もしくは約122アミノ酸長、123もしくは約123アミノ酸長、124もしくは約124アミノ酸長、または125もしくは約125アミノ酸長であるか、あるいは前記のもののいずれかの間の長さを有する。いくつかの局面において、スパーサーは、119もしくは約119アミノ酸長、または120もしくは約120アミノ酸長である。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:3もしくは138の配列、または該配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくはそれより高い配列同一性を有する、前記のもののいずれかのバリエーションを含むか、あるいはそれからなる。

40

【0345】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:138に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88

50

%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:138に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:193または139によって、あるいはSEQ ID NO:193または139に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:139によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

10

【0346】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、120または約120アミノ酸長である。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:3に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:3に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:4または137によって、あるいはSEQ ID NO:4または137に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:137によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

20

30

【0347】

いくつかの態様において、スパーサーは、全部または一部がIgG4および/またはIgG2に由来するものであり得、1つまたは複数のドメイン内に変異、例えば1つまたは複数の単一アミノ酸変異を含むものであり得る。いくつかの例において、アミノ酸改変は、IgG4のヒンジ領域におけるプロリン(P)のセリン(S)への置換である。いくつかの態様において、アミノ酸改変は、グリコシル化の不均一性、例えば、SEQ ID NO:48に示される完全長IgG4 Fc配列CH₂領域内の177位におけるN177Q変異またはSEQ ID NO:49に示される完全長IgG2 Fc配列CH₂領域内の176位におけるN176Qを低減するためのグルタミン(Q)のアスパラギン(N)での置換である。いくつかの態様において、スパーサーは、IgG4/2キメラヒンジもしくは改変型IgG4ヒンジ；IgG2/4キメラCH₂領域；およびIgG4 CH₃領域であるか、またはそれらを含み、任意で約228もしくは約229アミノ酸長であるか；またはSEQ ID NO:37もしくは194に示される、スパーサーである。

40

【0348】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:194に対して

50

、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:194に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:195または196によって、あるいはSEQ ID NO:195または196に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:196によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

10

【0349】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:37に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:37に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:38または140によって、あるいはSEQ ID NO:38または140に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、スパーサーは、SEQ ID NO:140によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

20

30

【0350】

いくつかの態様において、スパーサーは、コドン発現のため、および/またはスプライス部位（例えば隠れたスプライス部位）を排除するために最適化されているポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーのコード配列は、SEQ ID NO:30に示される核酸配列を含む。いくつかの態様において、スパーサーのコード配列は、SEQ ID NO:136に示される核酸配列を含む。いくつかの態様において、スパーサーのコード配列は、SEQ ID NO:137に示される核酸配列を含む。いくつかの態様において、スパーサーのコード配列は、SEQ ID NO:139に示される核酸配列を含む。いくつかの態様において、スパーサーのコード配列は、SEQ ID NO:140に示される核酸配列を含む。いくつかの態様において、スパーサーのコード配列は、SEQ ID NO:196に示される核酸配列を含む。

40

【0351】

追加の例示的なスパーサーとしては、非限定的に、Hudecek et al. (2013) Clin. Cancer Res., 19: 3153, Hudecek et al. (2015) Cancer Immunol. Res., 3 (2): 125-1

50

35またはWO2014031687に記載のものが挙げられる。いくつかの態様において、スパーサーのヌクレオチド配列は、発現の際のRNA不均一性を低減するために最適化されている。いくつかの態様において、スパーサーのヌクレオチド配列は、隠れたスプライス部位を低減するため、またはスプライス部位におけるスプライス事象の尤度を低減するために最適化されている。

【0352】

いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:2に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:135に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:192に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:3に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:4に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:138に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:193に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:37に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:38に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:194に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:195に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。

【0353】

いくつかの態様において、スパーサーは、コドン使用頻度のため、および/またはRNA不均一性を低減するために例えば隠れたスプライス部位を除去することによって任意で最適化されているポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:30に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:135に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:136に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:3に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:137に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:138に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:139に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:37に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:140に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:194に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:196に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:1、3、または37に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を示すアミノ酸配列を有し、コドン使用頻度のため、および/またはRNA不均一性を低減するために任意で最適化されているポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの態様において、スパーサーは、SEQ ID NO:135、138、または194に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を示すアミノ酸配列を有し、コドン使用頻度のため、および/またはRNA不均一性を低減するために任意で最適化されているポリヌクレオチドによってコードされる。

【0354】

c. 膜貫通ドメイン

抗原認識構成要素は概して、1つまたは複数の細胞内シグナル伝達構成要素、例えば、CARの場合は抗原受容体複合体、例えばTCR複合体による、および/または別の細胞表面受容体を介するシグナルによる活性化を模倣するシグナル伝達構成要素に連結される。したがって、いくつかの態様において、ROR1結合分子（例えば、抗体またはその抗原結合断片）は、本明細書に記載のものなどの1つまたは複数の膜貫通ドメインおよび本明細書に記載のものなどの1つまたは複数の細胞内構成要素を含む細胞内シグナル伝達ドメインに連結される。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは細胞外ドメインと融合される。一態様において、受容体（例えばCAR）におけるドメインのうちの1つと天然に結合している膜貫通ドメインが使用される。いくつかの場合において、膜貫通ドメインは、受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小限にするためにかかるドメインが同じか、または異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインと結合することが回避されるように選択されるか、あるいは受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小限にするためにかかるドメインが同じか、または異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインと結合することが回避されるようにアミノ酸置換によって改変される。

【0355】

いくつかの態様における膜貫通ドメインは、天然供給源または合成供給源のいずれかに由来する。供給源が天然である場合、いくつかの局面における該ドメインは任意の膜結合型タンパク質または膜貫通型タンパク質に由来する。膜貫通ドメインとしては、T細胞受容体の α 鎖、 β 鎖または ζ 鎖、CD3 ϵ 、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137および/またはCD154に由来する（すなわち、その少なくとも膜貫通ドメインを含む）ものが挙げられる。例えば、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:147または148に示される核酸配列によってコードされるSEQ ID NO:149に示されるアミノ酸配列を含むCD28の膜貫通ドメインであり得る。例えば、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:197または198に示される核酸配列によってコードされるSEQ ID NO:8に示されるアミノ酸配列を含むCD28の膜貫通ドメインであり得る。いくつかの態様において、該受容体（例えばCAR）の膜貫通ドメインは、ヒトCD28の膜貫通ドメインまたはそのバリエーション、例えば、ヒトCD28（アクセッション番号:P10747.1）の27個のアミノ酸からなる膜貫通ドメインまたは28個のアミノ酸の配列であるか、あるいはSEQ ID NO:8もしくは149に示されるアミノ酸配列、またはSEQ ID NO:8もしくは149に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性を示すアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメインである。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、コドン使用頻度のため、および/またはRNA不均一性を低減するために例えば隠れたスプライス部位を除去することによって任意で最適化されているポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:8または149に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:147、148、197、もしくは198に示されるポリヌクレオチド配列またはこれに対して少なくとも90%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の特定の場合において、膜貫通ドメインはN末端にメチオニン残基を有する。

【0356】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:8、あるいはSEQ ID NO:8に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:8に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:197または198によって、あるいはSEQ ID NO:197または198に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%

、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:198によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0357】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:149、あるいはSEQ ID NO:149に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:149に示される配列であるか、それを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:147または148によって、あるいはSEQ ID NO:147または148に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:148によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む。

【0358】

あるいは、いくつかの態様における膜貫通ドメインは合成である。いくつかの局面において、合成膜貫通ドメインは、主として疎水性残基、例えばロイシンおよびバリンを含む。いくつかの局面において、フェニルアラニン、トリプトファンおよびバリンのトリプレットが合成膜貫通ドメインの各末端にみられる。いくつかの態様において、連結はリンカー、スパーサーおよび/または膜貫通ドメインによるものである。

【0359】

d. 細胞内シグナル伝達構成要素

細胞内シグナル伝達ドメインの中には、天然の抗原受容体を介するシグナル、共刺激受容体との組合せでかかる受容体を介するシグナルおよび/または共刺激受容体だけを介するシグナルを模倣または近似するものがある。いくつかの態様において、短鎖のオリゴペプチドリンカーまたはポリペプチドリンカー、例えば2~10アミノ酸長のリンカー、例えばグリシンとセリンを含むもの、例えばグリシン-セリンダブレットをCARの膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメイン間に存在させて連結を形成する。

【0360】

該受容体（例えばCAR）は概して、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達構成要素を含む細胞内シグナル伝達領域を含む。いくつかの態様において、該受容体は、TCR複合体の細胞内構成要素または細胞内シグナル伝達ドメイン、例えばT細胞の活性化および細胞傷害性を媒介するTCR CD3鎖、例えばCD3ゼータ（CD3- ζ ）鎖を含む。したがって、いくつかの局面において、ROR1結合抗体は、1つまたは複数の細胞シグナル伝達モジュールに連結される。いくつかの態様において、細胞シグナル伝達モジュールは、CD3の膜貫通ドメイン、CD3の細胞内シグナル伝達ドメインおよび/または他のCD膜貫通ドメインを含む。いくつかの態様において、該受容体（例えばCAR）は、1つまたは複数の追加の分子、例えばFc受容体 γ 、CD8、CD4、CD25またはCD16の一部をさらに含む。例えば、いくつかの局面において、CARは、CD3-ゼータ（CD3- ζ ）またはFc受容体 γ とCD8、CD4

、CD25またはCD16とのキメラ分子を含む。

【0361】

いくつかの態様において、CARがライゲーシオンされると、CARの細胞質ドメインまたは細胞内シグナル伝達領域は、該CARを発現するように改変された免疫細胞、例えばT細胞の正常なエフェクター機能または応答のうちの少なくとも1つを刺激および/または活性化する。例えば、いくつかの状況において、CARは、T細胞の機能、例えば細胞溶解活性またはT-ヘルパー活性、例えばサイトカインまたは他の因子の分泌を誘導する。いくつかの態様において、抗原受容体構成要素または共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインの短縮型部分が、例えばエフェクター機能シグナルを伝達する場合にインタクトな免疫賦活性の鎖の代わりに使用される。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、T細胞受容体（TCR）の細胞質配列を含み、いくつかの局面において、天然の状況で抗原受容体の結合後にシグナル伝達を開始させるためにかかる受容体と協調して作用する共受容体のもの、および/またはかかる分子の任意の誘導體もしくはバリエーションおよび/または同じ機能性能力を有する任意の合成配列も含む。

10

【0362】

天然のTCRの状況では、完全な活性化には、概して、TCRを介するシグナル伝達だけでなく共刺激シグナルも必要とされる。したがって、いくつかの態様において、完全な活性化を促進させるために、副刺激シグナルまたは共刺激シグナルを生成させるための構成要素もまたCARに含める。他の態様において、CARは、共刺激シグナルを生成させるための構成要素を含まない。いくつかの局面において、追加のCARを同じ細胞において発現させて副刺激シグナルまたは共刺激シグナルを生成させるための構成要素をもたらす。

20

【0363】

T細胞の活性化は、いくつかの局面において、2つの種類の細胞質シグナル伝達配列:TCRを介する抗原依存性の一次活性化を開始させるもの（主細胞質シグナル伝達配列）と、副刺激シグナルまたは共刺激シグナルをもたらすように抗原非依存的な方法で作用するもの（副細胞質シグナル伝達配列）によって媒介されると記載している。いくつかの局面において、CARは、かかる種類の細胞質シグナル伝達配列の一方または両方を含む。

【0364】

いくつかの局面において、CARは、TCR複合体の一次刺激および/または一次活性化を調節する主細胞質シグナル伝達配列を含む。刺激性の様式で作用する主細胞質シグナル伝達配列は、免疫受容体チロシン活性化モチーフまたはITAMとして公知のシグナル伝達モチーフを含み得る。ITAM含有主細胞質シグナル伝達配列の例としては、TCRまたはCD3 ζ 、FcR γ 、CD3 γ 、CD3 δ およびCD3 ϵ に由来するものが挙げられる。いくつかの態様において、CARにおける細胞内シグナル伝達領域は、細胞質シグナル伝達ドメイン、その一部分またはCD3 ζ に由来する配列を含む。いくつかの態様において、CD3 ζ は、SEQ ID NO:150または182に示される核酸配列によってコードされるSEQ ID NO:13、14、または15に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CD3 ζ は、コドン使用頻度のため、および/またはRNA不均一性を低減するために例えば隠れたスプライス部位を除去することによって任意で最適化されているポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの態様において、CD3 ζ はSEQ ID NO:13に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:150に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ヒトCD3 ζ 刺激性シグナル伝達ドメインもしくはその機能性バリエーション、例えば、ヒトCD3 ζ （アクセッション番号:P20963.2）のアイソフォーム3の112個のアミノ酸からなる細胞質ドメイン、または米国特許第7,446,190号もしくは米国特許第8,911,993号に記載のCD3 ζ シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、SEQ ID NO:13、14、もしくは15に示されるアミノ酸配列、またはSEQ ID NO:13、14、もしくは15に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくはそれより高い配列同一性を示すアミノ酸配列を含む。

30

40

【0365】

50

いくつかの態様において、CARは、共刺激分子、例えばT細胞共刺激分子のシグナル伝達ドメイン（例えば、細胞内シグナル伝達ドメインもしくは細胞質シグナル伝達ドメイン）および/または膜貫通部分を含む。例示的な共刺激分子としては、CD28、4-1BB、OX40、DAP10およびICOSが挙げられる。例えば、共刺激分子は4-1BBに由来し得、SEQ ID NO:154または155に示されるヌクレオチド配列によってコードされるSEQ ID NO:12に示されるアミノ酸配列を含み得る。いくつかの態様において、4-1BBに由来する共刺激分子は、コドン使用頻度のため、および/またはRNA不均一性を低減するために例えば隠れたスプライス部位を除去することによって任意で最適化されているポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの態様において、4-1BBに由来する共刺激分子はSEQ ID NO:12に示されるアミノ酸配列を有し、SEQ ID NO:155に示されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの態様において、細胞内ドメインは、4-1BBの細胞内共刺激シグナル伝達ドメインまたはその機能性バリエーションもしくは一部分、例えば、ヒト4-1BB（アクセッション番号Q07011.1）の42個のアミノ酸からなる細胞質ドメインまたはその機能性バリエーションもしくは一部分、例えば、SEQ ID NO:12に示されるアミノ酸配列、またはSEQ ID NO:12に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性を示すアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、共刺激分子はCD28に由来し得、SEQ ID NO:183に示されるヌクレオチド配列によってコードされるSEQ ID NO:10に示されるアミノ酸配列を含み得る。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ヒトCD28の細胞内共刺激シグナル伝達ドメインまたはその機能性バリエーションもしくは一部分、例えば、その41個のアミノ酸からなるドメイン、および/または天然状態のCD28タンパク質の186~187位におけるLLからGGへの置換を有するかかるドメインを含む。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、SEQ ID NO:10もしくは11に示されるアミノ酸配列、またはSEQ ID NO:10もしくは11に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い配列同一性を示すアミノ酸配列を含み得る。いくつかの局面において、同じCARが、刺激性構成要素または活性化性構成要素（例えば、細胞質シグナル伝達配列）と共刺激構成要素の両方を含む。

【0366】

いくつかの局面において、膜貫通ドメインはCD28の膜貫通部分を含む。細胞外ドメインと膜貫通は直接または間接的に連結され得る。いくつかの態様において、細胞外ドメインと膜貫通は、スペーサー、例えば本明細書に記載のいずれかのものによって連結される。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、T細胞共刺激分子の細胞内ドメインを例えば膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインの間に含む。いくつかの局面において、T細胞共刺激分子はCD28または4-1BBである。

【0367】

いくつかの態様において、刺激性構成要素または活性化性構成要素をあるCAR内に含め、一方、共刺激構成要素は、別の抗原を認識する別のCARによってもたらす。いくつかの態様において、CARは、ともに同じ細胞上に発現される活性化性CARまたは刺激性CARと共刺激性CARを含む（WO2014/055668参照）。いくつかの局面において、ROR1を標的とするCARは刺激性CARまたは活性化性CARであり；他の局面では共刺激性CARである。いくつかの態様において、該細胞は、抑制性CAR（iCAR、Fedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5 (215) (December, 2013) 参照、例えばROR1以外の抗原を認識するCARをさらに含み、この場合、ROR1を標的とするCARを介して送達される刺激シグナルまたは活性化シグナルは、抑制性CARのそのリガンドとの結合によって減衰または阻害され、例えばオフターゲット効果が低減される。

【0368】

いくつかの態様において、該2つの受容体はそれぞれ該細胞に対し、一方の該受容体のその抗原とのライゲーシオンは該細胞を活性化するか、または応答を誘導するが、抑制性の第2の受容体のその抗原とのライゲーシオンは該応答を抑制するか、または弱めるシグ

10

20

30

40

50

ナルを誘導するような活性化シグナルおよび抑制シグナルを誘導する。例は、活性化性CARと抑制性CAR (iCAR) の組合せである。かかる戦略は、例えば、活性化性CARが、疾患または病態において発現されるが正常細胞上にも発現される抗原に結合し、抑制性受容体が、正常細胞上に発現されるが該疾患または病態の細胞上には発現されない別個の抗原に結合する状況におけるオフターゲット効果の尤度を低減するために使用され得る。

【0369】

いくつかの局面において、キメラ受容体は、抑制性CAR (例えば、iCAR) であるかまたはそれを含み、かつ細胞における免疫応答 (例えば、ITAMおよび/または共刺激により促進される応答) を弱めるかまたは抑制する細胞内構成要素を含む。かかる細胞内シグナル伝達構成要素の例示は、免疫チェックポイント分子上、例えばPD-1、CTLA4、LAG3、BTLA、OX2R、TIM-3、TIGIT、LAIR-1、PGE2受容体、EP2/4アデノシン受容体、例えばA2ARにみられるものである。いくつかの局面において、改変細胞は、かかる抑制性分子のシグナル伝達ドメインまたはかかる抑制性分子に由来するシグナル伝達ドメインを含む抑制性CARを含み、そのため、これは、例えば活性化性CARおよび/または共刺激性CARによって誘導される該細胞の応答を弱める機能を果たす。

【0370】

一部の特定の態様において、細胞内シグナル伝達領域は、CD3 (例えば、CD3- ζ) 細胞内ドメインに連結されたCD28膜貫通シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3 ζ 細胞内ドメインに連結されたキメラCD28/4-1BB (CD137; TNFRSF9) 共刺激ドメインを含む。

【0371】

いくつかの態様において、CARは、1つまたは複数、例えば2つまたはそれ以上の共刺激ドメインおよび刺激性ドメインまたは活性化ドメイン、例えば一次活性化ドメインを細胞質部分に含む。例示的なCARは、CD3- ζ 、CD28および4-1BBの細胞内構成要素を含む。

【0372】

いくつかの態様において、提供される態様の抗ROR1 CARは、本明細書、例えばセクションI.A.1および/または表2に記載の抗ROR1抗体または抗原結合断片のいずれかを含む細胞外抗原結合ドメイン; IgG4/2キメラヒンジもしくは改変型IgG4ヒンジを含むスペーサー、例えば約12アミノ酸長であるもの、または例えばSEQ ID NO:2もしくは30に示されるヌクレオチド配列によってコードされるSEQ ID NO:1に示されるスペーサー; 膜貫通ドメイン、例えばヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン; ならびにCD3-ゼータ (CD3 ζ) 鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと共刺激シグナル伝達領域とを含む細胞内シグナル伝達領域を含む。いくつかの態様において、提供される態様の抗ROR1 CARは、本明細書、例えばセクションI.A.1および/または表2に記載の抗ROR1抗体または抗原結合断片のいずれかを含む細胞外抗原結合ドメイン; IgG4/2キメラヒンジもしくは改変型IgG4ヒンジを含むスペーサー、例えば約13アミノ酸長であるもの、または例えばSEQ ID NO:136もしくは192に示されるヌクレオチド配列によってコードされるSEQ ID NO:135に示されるスペーサー; 膜貫通ドメイン、例えばヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン; ならびにCD3-ゼータ (CD3 ζ) 鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと共刺激シグナル伝達領域とを含む細胞内シグナル伝達領域を含む。

【0373】

いくつかの態様において、提供される態様の抗ROR1 CARは、本明細書、例えばセクションI.A.1および/または表2に記載の抗ROR1抗体または抗原結合断片のいずれかを含む細胞外抗原結合ドメイン; 改変型IgG4ヒンジ-CH3を含むスペーサー、例えば約119アミノ酸長であるもの、または例えばSEQ ID NO:4もしくは137に示されるヌクレオチド配列によってコードされるSEQ ID NO:3に示されるスペーサー; 膜貫通ドメイン、例えばヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン; ならびにCD3-ゼータ (CD3 ζ) 鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと共刺激シグナル伝達領域とを含む細胞内シグナル伝達領域を含む。いくつかの態様において、提供される態様の抗ROR1 CARは、本明細書、例えばセクションI.A.1および/または表2に記載の抗ROR1抗体または抗原結合断片のいずれかを含む細胞外抗原結

10

20

30

40

50

合ドメイン；改変型IgG4ヒンジ-C_H3を含むスペーサー、例えば約120アミノ酸長であるもの、またはSEQ ID NO:138に示されるスペーサー、例えばSEQ ID NO:193もしくは139に示されるヌクレオチド配列によってコードされるもの；膜貫通ドメイン、例えばヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン；ならびにCD3-ゼータ（CD3ζ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと共刺激シグナル伝達領域とを含む細胞内シグナル伝達領域を含む。

【0374】

いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:8に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、SEQ ID NO:149に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、共刺激シグナル伝達領域は、ヒトCD28、ヒト4-1BB、もしくはヒトICOSの細胞内シグナル伝達ドメインまたはそのシグナル伝達部分である。特定の態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ヒト4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインである。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞内シグナル伝達ドメインは、SEQ ID NO:12に示される配列であるか、またはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞質シグナル伝達ドメインは、例えばSEQ ID NO:13に示されるヒトCD3-ζの細胞質シグナル伝達ドメインである。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、細胞内シグナル伝達領域は、SEQ ID NO:13およびSEQ ID NO:12に示される配列を含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、本明細書のセクションI.D、表3および/または表E1に記載のもの。また、本明細書のセクションI.E、表3および/または表E1に記載のポリヌクレオチドによってコードされるCARが提供される。また、例えば提供される結合分子の一部分の全部をコードする本明細書に記載のヌクレオチド配列のいずれかを含むポリヌクレオチドが提供される。一部の特定の場合において、膜貫通ドメインは、N末端にメチオニン残基を有する。一部の特定の場合において、スペーサーは、C末端にメチオニン残基を有する。

【0375】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、抗ROR1キメラ抗原受容体は、SEQ ID NO:184、185、186、187、188、または189に示される配列、あるいはSEQ ID NO:184、185、186、187、188、または189に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:184に示されるアミノ酸配列、あるいはSEQ ID NO:184に示されるアミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるアミノ酸配列を有する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:185に示されるアミノ酸配列、あるいはSEQ ID NO:185に示されるアミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるアミノ酸配列を有する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:186に示されるアミノ酸配列、あるいはSEQ ID NO:186に示されるアミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるアミノ酸配列を有する。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CAR

は、SEQ ID NO:187に示されるアミノ酸配列、あるいはSEQ ID NO:187に示されるアミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるアミノ酸配列を有する。いずれかの態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:188に示されるアミノ酸配列、あるいはSEQ ID NO:188に示されるアミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるアミノ酸配列を有する。いずれかの態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:189に示されるアミノ酸配列、あるいはSEQ ID NO:189に示されるアミノ酸配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるアミノ酸配列を有する。

【0376】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、抗ROR1キメラ抗原受容体は、SEQ ID NO:156、157、158、159、160もしくは161に示される配列によって、またはSEQ ID NO:156、157、158、159、160もしくは161に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列によって、コードされる。いずれかの態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:156に示されるヌクレオチド配列によって、あるいはSEQ ID NO:156に示されるヌクレオチド配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるヌクレオチド配列によって、コードされる。いずれかの態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:157に示されるヌクレオチド配列によって、あるいはSEQ ID NO:157に示されるヌクレオチド配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるヌクレオチド配列によって、コードされる。いずれかの態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:158に示されるヌクレオチド配列によって、あるいはSEQ ID NO:158に示されるヌクレオチド配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるヌクレオチド配列によって、コードされる。いずれかの態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:159に示されるヌクレオチド配列によって、あるいはSEQ ID NO:159に示されるヌクレオチド配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは

は約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるヌクレオチド配列によって、コードされる。いずれかの態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:160に示されるヌクレオチド配列によって、あるいはSEQ ID NO:160に示されるヌクレオチド配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるヌクレオチド配列によって、コードされる。いずれかの態様のいくつかにおいて、抗ROR1 CARは、SEQ ID NO:161に示されるヌクレオチド配列によって、あるいはSEQ ID NO:161に示されるヌクレオチド配列に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性があるヌクレオチド配列によって、コードされる。

【0377】

2. 例示的な特徴

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、ROR1結合抗体またはその断片を含む提供される組換え受容体（例えばCAR）は、ROR1、例えばがん細胞または腫瘍細胞の表面上のROR1に結合する、例えば特異的に結合する。該態様のいずれかにおいて、提供されるCARにおける抗体または抗原結合断片は、ROR1、例えばヒトROR1に特異的に結合する。例示的なROR1結合組換え受容体（例えばCAR）は、任意の結合親和性、結合特異性および/または本明細書、例えばセクションI.A.2に記載の抗原認識の他の特徴、例えば種間交差反応性を示し得る。いくつかの態様において、該抗体またはその断片を含む細胞外抗原結合ドメインを含むCARは、該抗体またはその断片とほぼ同等または実質的に同じ結合特性および特徴を示す。いくつかの場合において、該抗体またはその断片を含む細胞外抗原結合ドメインを含むCARは、該抗体またはその断片と異なる結合特性および特徴を示す。

【0378】

いくつかの態様において、提供されるCARは受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1（ROR1）タンパク質に特異的に結合する。本明細書における態様のいずれかのいくつかにおいて、ROR1はヒトROR1を示す。抗体または他の結合分子（例えばCAR）がROR1に結合する、またはROR1に特異的に結合するという観察結果は、必ずしもこれがどの種のROR1にも結合することを意味するのではない。例えば、いくつかの態様において、ROR1に結合するという特徴、例えばいくつかの態様において、これに特異的に結合する能力および/またはこれに対する結合について参照抗体を含む参照受容体、例えば参照CARと競合する能力および/または特定の親和性で結合するか、もしくは特定の度合いで競合する能力はヒトROR1タンパク質に対する能力を示し、該抗体は、別の種、例えばマウスのROR1に対してはこの特徴を有しないことがあり得る。いくつかの態様において、CARはヒトROR1に結合し、別の種、例えばアカゲザルまたはマカク属のサルも結合する。いくつかの態様において、CARまたはその抗原結合断片はヒトROR1に結合し、別の種、例えばマウスのROR1には結合しない。いくつかの態様において、CARはヒトROR1に結合し、別の種、例えばマウスのROR1にも結合する。

【0379】

いくつかの態様において、CARはヒトROR1に、例えばヒトROR1、例えばSEQ ID NO:144に示されるヒトROR1（GenBank No. AAA60275.1；SEQ ID NO:215, Uniprot No. Q01973に示されるシグナルペプチドを含む配列）またはその対立遺伝子バリエーションもしくはスプライスバリエーションのエピトープまたは領域に結合、例えば特異的に結合する。

一態様において、ヒトROR1はSEQ ID NO:145または146に示されるアミノ酸配列を有する転写物バリエーションまたはアイソフォームである。いくつかの態様において、ヒトROR1タンパク質は、SEQ ID NO:144、145、146、または215に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CARは、細胞外領域ROR1に、例えばSEQ ID NO:144に示されるヒトROR1配列の残基1～377に相当する（シグナルペプチドを含むSEQ ID NO:215に示されるヒトROR1配列の残基30～406に相当する）ヒトROR1の細胞外領域内に存在する1つまたは複数の細胞外エピトープに結合する。

【0380】

いくつかの態様において、CARは、ROR1、例えばヒトROR1の線状エピトープに結合する。いくつかの態様において、該1つまたは複数のエピトープは構造的エピトープを含む。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、ROR1、例えばヒトROR1の1つまたは複数の構造的エピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、ヒトROR1の1つまたは複数のエピトープ、例えば、配列FRSTIYGSRLRIRNL（SEQ ID NO:199に示される）またはSEQ ID NO:200～214のうちのいずれか1つもしくは本明細書における表E2に示される配列を含む1つまたは複数のエピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、ヒトROR1の1つまたは複数のエピトープ、例えば、配列FRSTIYGSRLRIRNL（SEQ ID NO:199に示される）を含む1つまたは複数のエピトープに結合する。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、配列FRSTIYGSRLRIRNL（SEQ ID NO:199に示される）に加えて追加のエピトープ、例えば1つまたは複数の構造的エピトープに結合する。例示の1つまたは複数の追加のエピトープは、非限定的に、SEQ ID NO:200～214のうちのいずれか1つまたは本明細書における表E2に示される配列のうちの1つまたは複数を含む。

【0381】

いくつかの態様において、該抗体は非ヒトROR1、例えばアカゲザル（*Macaca mulatta*）ROR1（SEQ ID NO:216, Uniprot No. F6RUP2に示される）またはカニクイザル（*Macaca fascicularis*）ROR1（SEQ ID NO:217, Uniprot No. A0A2K5WTX7；もしくはSEQ ID NO:218, Uniprot No. A0A2K5WTX4に示される）に結合する。いくつかの局面において、非ヒトROR1の細胞外ドメインはヒトROR1配列に対して少なくとも99%同一である。

【0382】

いくつかの態様において、CARは、非ヒトROR1、例えばサル、ウサギ、ラット、マウスまたは他の種のROR1に結合する。いくつかの態様において、CARはマウス（*Mus musculus*）ROR1に、例えば、マウスROR1、例えばSEQ ID NO:171に示されるマウスROR1（GenBank No. NP_038873；SEQ ID NO:219, Uniprot No. Q9Z139に示されるシグナルペプチドを含む配列）のエピトープまたは領域に結合する。いくつかの態様において、CARはヒトROR1に結合し、マウスROR1にも結合する。いくつかの態様において、提供される抗ROR1抗体またはその断片の、いくつかの非ヒトROR1（例えばマウスROR1）への結合の程度は、該CARのヒトROR1への結合の、少なくとも、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、100%もしくは約100%、110%もしくは約110%、120%もしくは約120%、130%もしくは約130%、140%もしくは約140%、150%もしくは約150%、またはそれ以上である。いくつかの態様において、該抗体は、マウスROR1、例えばSEQ ID NO:171に示されるマウスROR1に結合しない。

【0383】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、例えばROR1結合抗体またはその抗原結合断片を含むCARの結合の程度は、非ヒトROR1（任意でマウスROR1）には結合しないか、交差反応しないか、またはより低い程度、レベル、度合い、もしくは親和性で結合するものである。いくつかの態様において、抗ROR1抗体の無関連の非ROR1タンパク質または非ヒトROR1タンパク質（例えばマウスROR1タンパク質または他の非ROR1タンパク質）への結合の程度は、測定時の該CARのヒトROR1への結合の、50%未満もしくは約50%

未満、40%未満もしくは約40%未満、30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満である。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、マウスROR1、例えばSEQ ID NO:171または219に示されるマウスROR1に結合しない。

【0384】

提供される態様のいずれかのいくつかにおいて、CARまたはその抗原結合断片は、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体2（ROR2）タンパク質（任意でヒトROR2タンパク質）には結合しないか、交差反応しないか、またはより低い程度、レベル、度合い、もしくは親和性で結合する。いくつかの態様において、例えばROR1結合抗体またはその断片を含む提供されるCARの、いくつかの非ROR1タンパク質（例えばROR2タンパク質）への結合の程度は、該CARのヒトROR1への結合より、少なくとも、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低い。いくつかの態様において、提供される抗体またはその抗原結合断片は、ROR2タンパク質（任意でヒトROR2タンパク質）には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する。いくつかの態様において、（例えば、ROR1結合抗体またはその断片を含む）提供されるCARの中には、マウスROR1への結合がヒトROR1への結合の30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満、例えば10%未満または約10%未満である、CARがある。いくつかの態様において、（例えばROR1結合抗体またはその断片を含む）提供されるCARの中には、ROR2（例えばヒトROR2）への結合がヒトROR1への結合の30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満、例えば10%未満または約10%未満であるCARがある。いくつかの態様において、提供されるCARはROR2タンパク質に対して、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性の結合を示す。いくつかの局面において、特定の抗原（例えば、ヒトROR1）に対する結合親和性および/または特異性は、結合を評価するための任意の方法、例えば本明細書におけるセクションI.A.2に記載のいずれかを用いて評価され得る。

【0385】

いくつかの態様において、提供されるCARは、ROR1、例えばヒトROR1に、いくつかの公知の方法のいずれかによる測定時、少なくともある特定の親和性で結合することができる。いくつかの態様において、親和性は平衡解離定数（ K_D ）によって表される。いくつかの態様では、親和性は EC_{50} によって表される。

【0386】

いくつかの態様において、該結合分子（例えばCAR）は、抗原、例えばROR1タンパク質またはそのエピトープに、本明細書、例えば本明細書におけるセクションI.A.2に記載の親和性または K_A （すなわち、特定の結合相互作用の平衡結合定数、単位は $1/M$ または M^{-1} ；二分子間の相互作用と仮定して、この結合反応のオフレート [k_{off} または k_d] に対するオンレート [k_{on} または k_a] の比である）、結合親和性（ EC_{50} ）および/または平衡解離定数（ K_D ；すなわち、特定の結合相互作用の平衡解離定数、単位は M ；二分子間の相互作用と仮定して、この結合反応のオンレート [k_{on} または k_a] に対するオフレート [k_{off} または k_d] の比である）あるいはオフレート（解離速度定数； k_{off} または k_d ）で結合、例えば特異的に結合する。例えば、平衡解離定数 K_D は、 $10^{-5}M \sim 10^{-13}M$ 、例えば $10^{-7}M \sim 10^{-11}M$ 、 $10^{-7}M \sim 10^{-10}M$ 、 $10^{-7}M \sim 10^{-9}M$ 、 $10^{-8}M \sim 10^{-10}M$ または $10^{-9}M \sim 10^{-10}M$ の範囲であり得る。

【0387】

一部の特定の態様において、ROR1タンパク質（例えばヒトROR1タンパク質）に対する結合分子（例えば抗ROR1 CAR）の結合親和性（ EC_{50} ）および/または平衡解離定数 K_D は、 $1\mu M$ 、 $500nM$ 、 $100nM$ 、 $50nM$ 、 $40nM$ 、 $30nM$ 、 $25nM$ 、 $20nM$ 、 $19nM$ 、 $18nM$ 、 $17nM$ 、 $16nM$ 、 $15nM$ 、 $14nM$ 、 $13nM$ 、 $12nM$ 、 $11nM$ 、 $10nM$ 、 $9nM$ 、 $8nM$ 、 $7n$

M、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM、もしくは1nM、もしくはそれ未満、または約1 μ M、約500nM、約100nM、約50nM、約40nM、約30nM、約25nM、約20nM、約19nM、約18nM、約17nM、約16nM、約15nM、約14nM、約13nM、約12nM、約11nM、約10nM、約9nM、約8nM、約7nM、約6nM、約5nM、約4nM、約3nM、約2nM、もしくは約1nM、もしくはそれ未満、または1 μ M未満、500nM未満、100nM未満、50nM未満、40nM未満、30nM未満、25nM未満、20nM未満、19nM未満、18nM未満、17nM未満、16nM未満、15nM未満、14nM未満、13nM未満、12nM未満、11nM未満、10nM未満、9nM未満、8nM未満、7nM未満、6nM未満、5nM未満、4nM未満、3nM未満、2nM未満、もしくは1nM未満、もしくはそれ未満、または約1 μ M未満、約500nM未満、約100nM未満、約50nM未満、約40nM未満、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約19nM未満、約18nM未満、約17nM未満、約16nM未満、約15nM未満、約14nM未満、約13nM未満、約12nM未満、約11nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、もしくは約1nM未満、もしくはそれ未満、あるいは前記のものいずれかによって画定される範囲である。いくつかの態様において、ROR1タンパク質に対する結合分子（例えば抗ROR1 CAR）のEC₅₀および/またはK_Dは、10nMもしくは約10nM～90nMもしくは約90nM、20nMもしくは約20nM～80nMもしくは約80nM、30nMもしくは約30nM～70nMもしくは約70nM、40nMもしくは約40nM～60nMもしくは約60nM、または40nMもしくは約40nM～50nMもしくは約50nMである。一部の特定の態様において、ROR1タンパク質（例えばヒトROR1タンパク質）に対する結合分子（例えば抗ROR1 CAR）のEC₅₀および/またはK_Dは、10nM、20nM、30nM、40nM、50nM、60nM、70nM、80nM、90nM、もしくは100nM、または約10nM、約20nM、約30nM、約40nM、約50nM、約60nM、約70nM、約80nM、約90nM、もしくは約100nM、あるいは前記のものいずれかによって画定される範囲である。一部の特定の態様において、ROR1タンパク質（例えばヒトROR1タンパク質）に対する結合分子（例えば抗ROR1 CAR）のEC₅₀および/またはK_Dは、10nMもしくは約10nM、20nMもしくは約20nM、30nMもしくは約30nM、40nMもしくは約40nM、50nMもしくは約50nM、60nMもしくは約60nM、70nMもしくは約70nM、80nMもしくは約80nM、90nMもしくは約90nM、または100nMもしくは約100nM、あるいは前記のものいずれかによって画定される範囲である。一部の特定の態様において、ROR1タンパク質（例えば、ヒトROR1タンパク質）に対する結合分子（例えば、抗ROR1 CAR）のEC₅₀および/またはK_Dは、40nMもしくは約40nM、41nMもしくは約41nM、42nMもしくは約42nM、43nMもしくは約43nM、44nMもしくは約44nM、または45nMもしくは約45nM、あるいは前記のものいずれかによって画定される範囲である。

【0388】

いくつかの態様において、提供される結合分子（例えば抗ROR1 CAR）は、速いオフレート（解離速度定数； k_{off} または k_d ；単位は1/sまたは s^{-1} ）を有する。いくつかの態様において、提供される結合分子のオフレート（ k_{off} または k_d ）は、 $1 \times 10^{-5} s^{-1}$ または約 $1 \times 10^{-5} s^{-1}$ から $1 \times 10^{-2} s^{-1}$ または約 $1 \times 10^{-2} s^{-1}$ 、例えば、 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ から $9 \times 10^{-3} s^{-1}$ もしくは約 $9 \times 10^{-3} s^{-1}$ 、 $1 \times 10^{-4} s^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-4} s^{-1}$ から $8 \times 10^{-3} s^{-1}$ もしくは約 $8 \times 10^{-3} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ から $7 \times 10^{-3} s^{-1}$ もしくは約 $7 \times 10^{-3} s^{-1}$ 、 $1 \times 10^{-3} s^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-3} s^{-1}$ から $6 \times 10^{-3} s^{-1}$ もしくは約 $6 \times 10^{-3} s^{-1}$ および $4 \times 10^{-3} s^{-1}$ もしくは約 $4 \times 10^{-3} s^{-1}$ から $6 \times 10^{-3} s^{-1}$ もしくは約 $6 \times 10^{-3} s^{-1}$ である。いくつかの態様において、提供される結合分子のオフレート（ k_{off} または k_d ）は、少なくとも、 $1 \times 10^{-5} s^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-5} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ 、 $1 \times 10^{-4} s^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-4} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ 、 $1 \times 10^{-3} s^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-3} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-3} s^{-1}$ もしくは約 $5 \times 10^{-3} s^{-1}$ 、または $1 \times 10^{-2} s^{-1}$ もしくは約 $1 \times 10^{-2} s^{-1}$ である。いくつかの態様において、提供される結合分子のオフレート（ k_{off} または k_d ）は、少なくとも、 $6 \times 10^{-4} s^{-1}$ もしくは約 $6 \times 10^{-4} s^{-1}$ 、 $7 \times 10^{-4} s^{-1}$ もしくは約 $7 \times 10^{-4} s^{-1}$ 、 $8 \times 10^{-4} s^{-1}$ もしくは約 $8 \times 10^{-4} s^{-1}$ 、 $9 \times 10^{-4} s^{-1}$ もしくは約 $9 \times 10^{-4} s^{-1}$ 、 $1 \times$

10^{-3}s^{-1} もしくは約 $1\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、 $2\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $2\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、 $3\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $3\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、 $4\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $4\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、 $5\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $5\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、 $6\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $6\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、 $7\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $7\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、 $8\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $8\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、 $9\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $9\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、または $1\times 10^{-2}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $1\times 10^{-2}\text{s}^{-1}$ である。いくつかの態様において、提供される結合分子のオフレート (k_{off} または k_{d}) は、少なくとも、 $4\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $4\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、 $5\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $5\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、または $6\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ もしくは約 $6\times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 、あるいは前記のもののいずれかによって画定される範囲である。いくつかの態様において、提供される結合分子、例えば抗ROR1 CARは、抗ROR1参照CAR（例えば抗ROR1 CAR R12）のオフレートより、少なくとも、2倍もしくは約2倍、3倍もしくは約3倍、4倍もしくは約4倍、5倍もしくは約5倍、6倍もしくは約6倍、7倍もしくは約7倍、8倍もしくは約8倍、9倍もしくは約9倍、または10倍もしくは約10倍速いオフレートを有する。

【0389】

いくつかの態様において、種間交差反応性を調べるために、異なる抗原（例えば異なる種に由来するROR1タンパク質）に対する結合分子（例えば抗ROR1 CAR）の結合親和性が比較され得る。例えば、種間交差反応性は、高交差反応性または低交差反応性と分類され得る。いくつかの態様において、種間交差反応性を調べるために、異なる抗原（例えば異なる種、例えばヒト、カニクイザルまたはマウスに由来するROR1タンパク質）に対する平衡解離定数 K_{D} が比較され得る。いくつかの態様において、抗ROR1 CARの種間交差反応性は高いものであり得、例えば抗ROR1 CARはヒトROR1および種バリエーションROR1にほぼ同等の度合いで結合し、例えばヒトROR1に対する K_{D} と種バリエーションROR1に対する K_{D} の比は1または約1である。いくつかの態様において、抗ROR1 CARの種間交差反応性は低いものであり得、例えば抗ROR1 CARはヒトROR1に対して高親和性を有するが種バリエーションROR1に対しては低親和性を有するか、またはその逆である。例えば、種バリエーションROR1に対する K_{D} とヒトROR1に対する K_{D} の比は、10より大きい、15より大きい、20より大きい、25より大きい、30より大きい、40より大きい、50より大きい、60より大きい、70より大きい、80より大きい、90より大きい、100より大きい、200より大きい、500より大きい、1000より大きい、2000より大きい、またはそれより大きく、抗ROR1 CARは低い種間交差反応性を有する。種間交差反応性の度合いを公知のCAR（例えば参照CAR）の種間交差反応性と比較してもよい。

【0390】

いくつかの態様において、提供されるCARの特性または特徴は、別のCAR（例えば参照CAR）で観察される特性との関連において記載される。いくつかの態様において、参照CARは、細胞外抗原結合ドメインとして、本明細書に記載の参照抗体またはその断片、例えばR12と表示されるウサギ/ヒトキメラのIgG1抗体（例えば、Yang et al. (2011) PLoS ONE, 6: e21018；米国特許出願公開第2013/0251642号参照）；2A2と表示されるマウス抗ヒトROR1抗体（例えば、Baskar et al. (2012) MABs, 4: 349-361；米国特許出願公開第2012/20058051号参照）；PCT国際特許出願公開WO2014/031174号に記載のヒト化抗ROR1抗体；99961と表示される抗体のヒト化バリエーションを含む。

【0391】

いくつかの態様において、CARは、参照CARの対応する形態の親和性とほぼ同じまたはより低い親和性を有し、例えば、参照CARの対応する形態の EC_{50} または K_{D} よりも、1.5倍以下もしくは約1.5倍以下大きい、2倍以下もしくは約2倍以下大きい、3倍以下もしくは約3倍以下大きい、かつ/または10倍以下もしくは約10倍以下大きい、 EC_{50} または K_{D} を有する。いくつかの態様において、CARは、参照CARの対応する形態の親和性とほぼ同じまたはより低い親和性を有し、例えば、参照CARの対応する形態の EC_{50} または K_{D} よりも、少なくとも1.5倍もしくは約1.5倍大きい、少なくとも2倍もしくは約2倍大きい、少なくとも3倍もしくは約3倍大きい、少なくとも5倍もしくは約5倍大きい、少なくとも10倍もしくは約10倍大きい、少なくとも20倍もしくは約20倍大きい、少なくとも25倍もしくは約25倍大きい、少なくとも30倍もしくは約30倍大きい、少なくとも40倍もしくは約4

0倍大きい、少なくとも50倍もしくは約50倍大きい、または少なくとも100倍もしくは約100倍大きい、EC₅₀またはK_Dを有する。いくつかの態様において、CARは、参照CARの対応する形態の親和性とほぼ同じまたはより低い親和性を有し、参照CARの親和性よりも、1.5倍もしくは約1.5倍、2倍もしくは約2倍、3倍もしくは約3倍、4倍もしくは約4倍、5倍もしくは約5倍、6倍もしくは約6倍、7倍もしくは約7倍、8倍もしくは約8倍、9倍もしくは約9倍、10倍もしくは約10倍、20倍もしくは約20倍、25倍もしくは約25倍、30倍もしくは約30倍、40倍もしくは約40倍、50倍もしくは約50倍、または100倍もしくは約100倍低い、親和性を有する。

【0392】

いくつかの態様において、CARは、参照CARの対応する形態のものより大きな親和性を有し、例えば、参照CARの対応する形態のEC₅₀またはK_Dより低いか、あるいは参照CARの対応する形態のEC₅₀またはK_Dより5倍もしくは約5倍低い、10倍もしくは約10倍低い、20倍もしくは約20倍低い、30倍もしくは約30倍低い、40倍もしくは約40倍低い、50倍もしくは約50倍低い、60倍もしくは約60倍低い、70倍もしくは約70倍低い、80倍もしくは約80倍低い、90倍もしくは約90倍低い、100倍もしくは約100倍低い、150倍もしくは約150倍低い、200倍もしくは約200倍低い、250倍もしくは約250倍低い、またはそれより低いEC₅₀またはK_Dを有する。

【0393】

いくつかの態様において、CARは、参照CARが結合するROR1のエピトープと重複するエピトープに特異的に結合する。いくつかの局面において、かかるCARの中には、参照CARと同じかまたは類似のエピトープに結合するCARがある。いくつかの態様において、CARは、参照CAR、例えば抗ROR1 CAR R12またはそのscFv断片（SEQ ID NO:142に示される；例えばYang et al. (2011) PloS ONE, 6: e21018参照）と同じかまたは類似のエピトープあるいはROR1の同じ領域内のエピトープまたは同じ領域内の残基を含むエピトープに結合する。いくつかの態様において、CARは、ROR1（例えばヒトROR1）への結合を阻害し、かつ/またはROR1（例えばヒトROR1）への結合について参照CARと競合する。

【0394】

提供されるCARの中には、抗原依存性の活性またはシグナル伝達、すなわち、測定可能に存在していないシグナル伝達活性あるいは抗原、例えばROR1の非存在下および/または非特異的抗原の存在下におけるバックグラウンドレベルであるシグナル伝達活性を示すCARがある。したがって、いくつかの局面において、提供されるCARは、存在すべき抗原、例えばROR1の非存在下では、トニックシグナル伝達または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示さないか、あるいはバックグラウンド以下または許容レベルもしくは低レベルのトニックシグナル伝達または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す。いくつかの態様において、提供される抗ROR1 CAR発現細胞は、生物学的活性または機能、例えば細胞傷害活性、サイトカイン産生および増殖能力を示す。いくつかの態様において、提供されるCAR受容体は、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより高い抗原特異的シグナル伝達および/または抗原依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す。

【0395】

いくつかの態様において、提供されるCARは、抗原（例えばROR1）の非存在下では、非存在レベル、低減されたレベル、またはより低いレベルの、活性またはシグナル伝達を示す。いくつかの態様において、提供されるCARは、抗原の非存在下では、低減された、より低いトニックシグナル伝達または抗原非依存性のシグナル伝達もしくは活性を示すか、あるいはトニックシグナル伝達または抗原非依存性のシグナル伝達もしくは活性がほぼまたは完全に存在せず、例えば、該シグナル伝達または活性は、ヒトROR1の存在下での該CARのシグナル伝達または活性の30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満、例えば10%未満または約10%未満であるシグナル伝達または活性である。いくつかの態様において、提供されるCARは、任意

10

20

30

40

50

で同じまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体（CAR）と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いトニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す。いくつかの局面において、CARを発現するように改変された複数または一群の細胞のうち、該複数の細胞の10%未満もしくは約10%未満、9%未満もしくは約9%未満、8%未満もしくは約8%未満、7%未満もしくは約7%未満、5%未満もしくは約5%未満、4%未満もしくは約4%未満、3%未満もしくは約3%未満、2%未満もしくは約2%未満、または1%未満もしくは約1%未満が、トニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示すキメラ抗原受容体を含む。いくつかの態様において、ROR1特異的参照CARとしては、本明細書に記載の任意の抗ROR1参照抗体、例えば本明細書におけるセクションI.A.2に記載のもの、例えばR12、A2Aもしくは99961またはその抗原結合断片を含む抗原結合ドメインを有するものが挙げられる。

10

【0396】

いくつかの態様において、提供されるCARは、非特異的抗原、例えば異なるが関連しているタンパク質、例えばROR2に曝露された場合、非存在レベル、低減されたレベルまたはより低いレベルの活性またはシグナル伝達を示す。いくつかの態様において、提供されるCARはROR2タンパク質に対して、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いまたは親和性の結合を示す。いくつかの態様において、提供されるCARは、ROR2、例えばヒトROR2の存在下では、シグナル伝達または活性がヒトROR1の存在下での該CARのシグナル伝達または活性の30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満、例えば10%未満または約10%未満であるような、低減されたシグナル伝達または活性を示す。

20

【0397】

いくつかの態様において、提供される抗ROR1 CARを発現する改変細胞は、養子細胞療法のために対象に投与した場合、改善された生物学的活性または機能活性、例えば抗腫瘍活性、腫瘍の成長の抑止、腫瘍体積の低減、持続、拡大増殖または対象の生存の長期化を示す。いくつかの態様において、提供されるCARを発現する改変細胞は、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体を発現する改変細胞と比べて改善された生物学的活性または機能活性、例えば抗腫瘍活性、腫瘍の成長の抑止、腫瘍体積の低減、持続、拡大増殖または対象の生存の長期化を示す。いくつかの態様において、キメラ受容体の生物学的活性または機能活性、例えば細胞傷害活性は、いくつかの公知の方法のいずれかを用いて測定され得る。該活性は、インビトロまたはインビボのいずれかで評価または判定され得る。いくつかの態様において、該活性は、該細胞が対象（例えば、ヒト）に投与されたら評価され得る。評価するためのパラメータとしては、例えば、例えばイメージングによるインビボでの、または例えばELISAもしくはフローサイトメトリーによるエキソビボでの抗原に対する改変されたもしくは天然のT細胞または他の免疫細胞の特異的結合が挙げられる。一部の特定の態様では、改変細胞が標的細胞を破壊する能力が、例えばKochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32 (7): 689-702 (2009)およびHerman et al. J. Immunological Methods, 285 (1): 25-40 (2004)に記載の細胞傷害性アッセイなどの任意の適当な公知の方法を用いて測定され得る。また、一部の特定の態様では、該細胞の生物学的活性は、ある特定のサイトカイン、例えばインターレクキン（interleukin）-2（IL-2）、インターフェロン- γ （IFN γ ）、インターロイキン-4（IL-4）、TNF- α （TNF α ）、インターロイキン-6（IL-6）、インターロイキン-10（IL-10）、インターロイキン-12（IL-12）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、CD107aおよび/またはTGF- β （TGF β ）の発現および/または分泌をアッセイすることにより測定され得る。サイトカインを測定するためのアッセイは周知であり、非限定的に、ELISA、細胞内サイトカイン染色、サイトメトリックビーズアレイ法、RT-PCR、ELISPOT、フローサイトメトリー、および該当するサイトカインに応答性の細胞を試験試料の存在下で応答性（例えば、増殖）について試験するバイ

30

40

50

オアッセイが挙げられる。いくつかの局面において、生物学的活性は、疾患または病態の動物モデル、例えば腫瘍異種移植片モデルを使用し、腫瘍量もしくは腫瘍細胞量および/または生存率の低減を評価して測定され得る。いくつかの局面において、生物学的活性は、臨床転帰、例えば腫瘍量または腫瘍細胞量の低減を評価することによって測定される。

【0398】

いくつかの態様において、提供される抗ROR1 CARを発現する改変細胞の投与により、参照CAR、例えば抗ROR1 R12を発現する改変細胞の投与と比べて実質的に改善された腫瘍の成長の抑止、インビボ持続および/または腫瘍を有する対象の生存の長期化が示される。いくつかの局面において、かかる改善は、種々の型のROR1発現がん、例えば非限定的に、肺癌、乳癌、慢性リンパ性白血病（CLL）、卵巣癌、またはマントル細胞リンパ腫（MCL）を有する対象において観察される。

10

【0399】

いくつかの態様において、提供される抗ROR1 CARを発現する改変細胞は、養子細胞療法のために対象に投与した場合、改善された持続および拡大増殖を示す。いくつかの態様において、提供されるCARを発現する改変細胞は、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体を発現する改変細胞と比べて同じ、実質的に同じ、またはより高い持続および拡大増殖を示す。いくつかの局面において、提供されるいずれかの受容体（例えばCAR）を発現する改変細胞の増殖、拡大増殖および/または持続は、改変細胞、例えば養子細胞療法のために投与される細胞の曝露、数、濃度、持続および増殖を調べることにより評価され得る。いくつかの態様において、例えば改変細胞が投与された対象、例えばヒト対象または動物対象に由来する改変T細胞、例えばT細胞ベースの治療法のために投与されるT細胞、またはそのサブセット、例えばCD3⁺細胞、CD4⁺細胞、CD8⁺細胞、CD3⁺CAR⁺細胞、CD4⁺CAR⁺細胞もしくはCD8⁺CAR⁺細胞の曝露、数またはレベルが評価され得る。いくつかの局面において、曝露、数、濃度、持続および増殖は薬物動態パラメータと関連している。いくつかの場合において、薬物動態は、最高（ピーク）血漿濃度（C_{max}）、ピーク時間（すなわち、最高血漿濃度（C_{max}）が存在する時点；T_{max}）、最低血漿濃度（すなわち、治療用薬剤、例えばCAR⁺T細胞の用量間での最低血漿濃度；C_{min}）、消失半減期（T_{1/2}）および曲線下面積（すなわち、時間に対して治療用薬剤CAR⁺T細胞の血漿濃度をプロットすることにより得られる曲線下面積；AUC）などのパラメータを投与後に測定することにより評価され得る。投与後の血漿中の特定の治療用薬剤、例えばCAR⁺T細胞の濃度は、血液試料中の治療用薬剤、例えばCAR⁺T細胞の濃度を評価するのに適した任意の公知の方法または本明細書に記載の任意の方法を用いて測定され得る。例えば、核酸ベースの方法、例えば定量PCR（qPCR）もしくはフローサイトメトリーベースの方法、または他のアッセイ、例えばイムノアッセイ、ELISAもしくはクロマトグラフィー/質量分析ベースのアッセイが使用され得る。

20

30

【0400】

いくつかの局面において、抗ROR1 CAR発現細胞を介する抗原非依存性の活性および/またはトニックシグナル伝達をモニタリングするためにレポーター細胞株が使用される。いくつかの態様において、T細胞株、例えばJurkat細胞株は、内在性Nur77転写調節エレメントの制御下で発現されるレポーター分子、例えば蛍光タンパク質または他の検出可能な分子、例えば赤色蛍光タンパク質を含む。いくつかの態様において、Nur77レポーターの発現は、細胞内因的であり、T細胞内一次活性化シグナル、T細胞受容体（TCR）構成要素のシグナル伝達ドメインおよび/または免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ITAM）を含むシグナル伝達ドメイン、例えばCD3ζ鎖を含む組換えレポーターを介するシグナル伝達に依存性である。Nur77発現は概して、細胞外因的様式で作用し得、かつ組換え受容体を介するシグナル伝達に依存し得ない他のシグナル伝達経路、例えばサイトカインシグナル伝達またはtoll様受容体（TLR）シグナル伝達によって影響されない。したがって、適切なシグナル伝達領域を含む外来性の組換え受容体、例えば抗ROR1 CARを発現する細胞のみが、刺激（例えば、特異的抗原の結合）を受けるとNur77を発現することができる。いくつかの場合において、Nur77発現はまた、刺激（例えば、抗原）の量に対して用量依

40

50

存性応答を示し得る。

【0401】

いくつかの場合において、受容体（例えばCAR）の特定の活性、シグナル伝達または機能の特異性、交差反応性、および/または抗原依存性を評価するため、該受容体の活性、シグナル伝達または生物学的機能を評価するための記載の任意のアッセイが、特異的標的抗原、例えばヒトROR1の存在下および非存在下で、あるいは特異的標的抗原、例えばヒトROR1の存在下および異なる非特異的抗原、例えばヒトROR2もしくは非ヒトROR1、例えばマウスROR1の存在下で評価され得る。

【0402】

いずれかの態様のいくつかにおいて、提供される抗ROR1 CARは、ROR2タンパク質、例えばヒトROR2の存在下で、例えば同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、ROR1タンパク質、例えばヒトROR1の存在下でのレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。例えば、いくつかの局面において、提供される抗ROR1 CARは、ヒトROR2の存在下では、例えば同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、ヒトROR1の存在下でのレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性より少なくとも75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。

【0403】

いずれかの態様のいくつかにおいて、提供される抗ROR1 CARは、ROR2タンパク質、例えばヒトROR2の存在下で、例えば同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、ROR1特異的参照CARと比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。いずれかの態様のいくつかにおいて、提供される抗ROR1 CARは、ROR2タンパク質、例えばヒトROR2の存在下で、例えば同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、ROR1特異的参照CARと比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す。いずれかの態様のいくつかにおいて、提供される抗ROR1 CARは、例えば同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、ROR1特異的参照CARと比べて同じ、実質的に同じ、またはより高い抗原特異的シグナル伝達および/または抗原依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す。

【0404】

いずれかの態様のいくつかにおいて、提供される抗ROR1 CARは、例えば同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、ROR1特異的参照CARと比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いトニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す。例えば、いくつかの態様において、提供される抗ROR1 CARは、例えば同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、ROR1特異的参照CARのトニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性のレベルまたは度合いより少なくとも75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低いレベルまたは度合いのトニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す。

【0405】

いくつかの態様において、提供される抗ROR1 CARは、例えば同一のアミノ酸配列を有するがスプライス部位が排除されておらずかつ/またはコドンが最適化されていないヌクレオチド配列によってコードされる別のCARと比べて、細胞表面において改善された発現を示す。いくつかの態様において、細胞表面における組換え受容体の発現が評価され得る。細胞表面における組換え受容体の発現を調べるためのアプローチとしては、キメラ抗原受容体（CAR）に特異的な抗体（例えば、Brentjens et al., Sci. Transl. Med. 2013 Mar; 5 (177): 177ra38）、プロテインL（Zheng et al., J. Transl. Med. 2012 Feb; 10: 29）、エピトープタグ、およびCARポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体（WO2014190273参照）の使用が挙げられ得る。いくつかの態様では、細胞（例えば初代T細胞）の表面における組換え受容体の発現が、例えばフローサイトメトリーによ

10

20

30

40

50

り、組換え受容体またはその検出可能な部分に結合し得る結合分子を用いて、評価され得る。いくつかの態様において、組換え受容体の発現を検出するために使用される結合分子は、抗イディオタイプ抗体、例えば結合ドメイン（例えばscFvまたはその一部分）に特異的な抗イディオタイプアゴニスト抗体である。いくつかの態様において、該結合分子は、単離もしくは精製された抗原（例えば組換え発現抗原）であるか、またはそれを含む。

【0406】

E. 結合分子をコードするポリヌクレオチド

また、該結合分子、例えば抗ROR1抗体、その抗原結合断片、組換え受容体（例えば、キメラ抗原受容体）をコードするポリヌクレオチドおよび/またはその一部分、例えば鎖もしくは断片が提供される。提供されるポリヌクレオチドの中には、本明細書に記載の抗ROR1抗体（例えば、抗原結合断片）またはキメラ抗原受容体をコードするものがある。ポリヌクレオチドには、天然のヌクレオチドおよび塩基を含んでいるものおよび/または天然に存在していないヌクレオチドおよび塩基を含んでいるもの、例えば主鎖修飾を有するものなどが包含され得る。用語「核酸分子」、「核酸」、「ヌクレオチドの配列」および「ポリヌクレオチド」は互換的に使用され得、ヌクレオチドのポリマーを示す。かかるヌクレオチドのポリマーは、天然および/または非天然のヌクレオチドを含み得、非限定的にDNA、RNAおよびPNAが包含され得る。「核酸配列」は、核酸分子またはポリヌクレオチドを構成するヌクレオチドの線形配列を示す。

【0407】

本明細書に記載の任意の抗ROR1抗体またはその抗原結合ドメイン、あるいはその任意の一部分、断片、鎖、またはドメインをコードする核酸を含むポリヌクレオチドが提供される。いくつかの態様において、該抗体またはその抗原結合断片は、複数のドメインまたは鎖（例えば、重鎖および軽鎖）を含み、該抗体またはその抗原結合断片のすべてが1つのポリヌクレオチドによってコードされる。また、本明細書に記載の任意の一本鎖細胞表面タンパク質をコードする核酸を含むポリヌクレオチドが提供される。また、本明細書に記載の任意のコンジュゲートをコードする核酸を含むポリヌクレオチドが提供される。また、本明細書に記載の任意の抗ROR1キメラ抗原受容体をコードする核酸を含むポリヌクレオチドが提供される。いくつかの態様において、該結合分子、例えば抗体もしくはその抗原結合断片または組換え受容体は、複数のドメインまたは鎖（例えば、重鎖および軽鎖）を含み、結合分子全体が複数のポリヌクレオチド（例えば2つまたはそれ以上のポリヌクレオチド）によってコードされる。いくつかの態様において、該ポリヌクレオチドはベクター内に含まれる。

【0408】

いくつかの局面において、本明細書、例えばセクションI.AおよびI.Dにおいて提供される任意の結合分子をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドが提供される。いくつかの態様において、本明細書、例えばセクションI.AおよびI.Dにおいて提供される任意の結合分子の一部分、断片、鎖またはドメインをコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【0409】

いくつかの場合において、ROR1結合分子、例えば抗体もしくはその抗原結合断片または組換え受容体（例えば、CAR）をコードするポリヌクレオチドは、いくつかの場合ではROR1結合分子、例えば抗体もしくはその抗原結合断片または組換え受容体（例えば、CAR）をコードする核酸配列の上流にコードされているか、あるいは抗原結合ドメインをコードする核酸配列の5'末端に連結されている、シグナルペプチドをコードするシグナル配列を含む。いくつかの場合において、ROR1結合分子、例えば抗体もしくはその抗原結合断片または組換え受容体（例えば、CAR）をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドは、シグナルペプチドをコードするシグナル配列を含む。いくつかの局面において、シグナル配列は、天然状態のポリペプチドに由来するシグナルペプチドをコードし得る。他の局面において、シグナル配列は、異種または非天然状態のシグナルペプチドをコードし得る。いくつかの局面において、非限定的で例示的なシグナルペプチドとしては、SEQ ID

10

20

30

40

50

NO:43に示されるか、またはSEQ ID NO:44に示されるヌクレオチド配列によってコードされるIgGκ鎖のシグナルペプチドが挙げられる。いくつかの局面において、非限定的で例示的なシグナルペプチドとしては、SEQ ID NO:45に示され、SEQ ID NO:46に示されるヌクレオチド配列によってコードされるGMCSFR α鎖のシグナルペプチドが挙げられる。いくつかの局面において、非限定的で例示的なシグナルペプチドとしては、SEQ ID NO:47に示されるCD8αシグナルペプチドのシグナルペプチドが挙げられる。いくつかの局面において、非限定的で例示的なシグナルペプチドとしては、SEQ ID NO:42に示され、SEQ ID NO:190に示されるヌクレオチド配列によってコードされるCD33シグナルペプチドのシグナルペプチドが挙げられる。いくつかの場合において、ROR1結合分子、例えば抗体もしくはその抗原結合断片または組換え受容体（例えば、CAR）をコードするポリヌクレオチドは、追加の分子、例えばサロゲートマーカーまたは他のマーカーをコードする核酸配列を含んでいてもよく、追加の構成要素、例えばプロモーター、調節エレメントおよび/またはマルチシストロン性エレメントを含んでいてもよい。いくつかの態様において、ROR1結合分子、例えば抗体もしくはその抗原結合断片または組換え受容体（例えば、CAR）をコードする核酸配列は該追加の構成要素のいずれかに機能的に連結され得る。

【0410】

いくつかの態様において、抗体もしくはその抗原結合断片または抗体もしくはその抗原結合断片を含む組換え受容体の重鎖可変ドメイン（V_H）をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドが提供される。いくつかの態様において、抗体もしくはその抗原結合断片または抗体もしくはその抗原結合断片を含む組換え受容体の軽鎖可変ドメイン（V_L）をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドが提供される。いくつかの態様において、抗体もしくはその抗原結合断片または抗体もしくはその抗原結合断片を含む組換え受容体の重鎖可変ドメイン（V_H）および軽鎖可変ドメイン（V_L）をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【0411】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:110、119、101、または128に示される配列、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、または128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:113、122、または104に示される配列、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸を含む。

【0412】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:110、119、101、または128に示される配列、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、または128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは

約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:113、122、または104に示される配列、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。

【0413】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:110に示される配列、あるいはSEQ ID NO:110に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸を含む。いくつかの態様において、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:113に示される配列、あるいはSEQ ID NO:113に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸を含む。いくつかの態様において、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:119に示される配列、あるいはSEQ ID NO:119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸を含む。いくつかの態様において、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:122に示される配列、あるいはSEQ ID NO:122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸を含む。

【0414】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:101に示される配列、あるいはSEQ ID NO:101に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸を含む。いくつかの態

10

20

30

40

50

20

30

50

9%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸を含む。

【0416】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:101に示される配列、あるいはSEQ ID NO:101に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:104に示される配列、あるいはSEQ ID NO:104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:128に示される配列、あるいはSEQ ID NO:128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:104に示される配列、あるいはSEQ ID NO:104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。

【0417】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:116、125、107、または132に示される配列、あるいはSEQ ID NO:116、125、107、または132に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:116に示される配列、あるいはSEQ ID NO:116に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは

20

30

50

る核酸配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:195に示される配列、あるいはSEQ ID NO:195に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む。

【0419】

また、コドン使用頻度のため、および/またはスプライス部位（例えば隠れたスプライス部位）を排除するために最適化されているポリヌクレオチドが提供される。いくつかの態様において、該ポリヌクレオチドは、コドン使用頻度を最適化するために改変されている。いくつかの態様において、該ポリヌクレオチドは、ヒト細胞内（例えばヒトT細胞内、例えばヒト初代T細胞内）での発現用にコドンが最適化されている。いくつかの態様において、該ポリヌクレオチド（例えば、本明細書において提供される任意の抗体、受容体（例えば、抗原受容体、例えばキメラ抗原受容体）および/またはROR1特異的結合タンパク質をコードするもの）は、不均一性を低減させるため、あるいは相違する参照配列を含むもの、または改変されていないものと比べて該ポリペプチド（例えばCAR）の特徴の改善がもたらされるように本明細書において観察される（例えば、最適化方法による）1つまたは複数の核酸配列を含めるために、改変されるか、あるいは改変されている。いくつかの態様において、該ポリヌクレオチドは、スプライス部位の排除によって最適化されている。かかる特徴としては、改善されたRNA不均一性（例えば、1つもしくは複数のスプライス部位、例えば1つもしくは複数の隠れたスプライス部位の存在に起因するRNA不均一性）、ならびに/あるいはコードされているタンパク質の改善された発現および/または表面発現（例えば、該ポリペプチドを発現するように改変された細胞間もしくは異なる治療用細胞組成物間の発現の、増大されたレベル、一様性、もしくは一貫性）が挙げられる。いくつかの態様において、該ポリヌクレオチドは、ヒト細胞での発現用にコドンが最適化されていてもよい。

【0420】

ゲノム核酸配列は概して、天然状態で哺乳動物細胞内において転写と同時または転写直後にプロセッシングを受け、このとき、ゲノムデオキシリボ核酸（DNA）配列から転写された生成中のメッセンジャーリボ核酸前駆体（pre-mRNA）は、いくつかの場合ではスプライシングによって編集されてイントロンが除去され、続いて真核生物細胞内でエキソン同士の連結が起こる。スプライス部位のコンセンサス配列は公知であるが、いくつかの局面では、スプライス部位を画定する特定のヌクレオチド情報が複雑であり得、利用可能な方法に基づいてすぐにわからない場合があり得る。隠れたスプライス部位は、標準的なコンセンサス配列に基づいて予測されず、可変的に活性化されるスプライス部位である。したがって、隠れたスプライス部位のpre-mRNAの可変的スプライシングにより、真核生物細胞内で発現すると転写されたmRNA産物の不均一性がもたらされる。

【0421】

導入遺伝子の発現のために生成されるポリヌクレオチドは典型的には、イントロンを含んでいない核酸配列、例えば相補的DNA（cDNA）またはその一部分から構築される。したがって、かかる配列のスプライシングが起こることは予測されない。しかしながら、cDNA配列内の隠れたスプライス部位の存在により、意図されないか、または所望されないスプライシング反応および転写されたmRNAの不均一性がもたらされ得る。かかる不均一性により、意図されないタンパク質産物、例えば変更された発現および/または活性を示す可変的アミノ酸配列を有する短縮型タンパク質産物の翻訳がもたらされる。

【0422】

いくつかの態様において、スプライス部位（例えば隠れたスプライス部位）を排除する

ことにより、導入遺伝子産物（例えば導入遺伝子から翻訳されるポリペプチド、例えば抗 ROR1 CARポリペプチド）の発現が改善または最適化され得る。コード導入遺伝子（例えば ROR1 CARをコードする分子）の隠れたスプライス部位におけるスプライシングにより、タンパク質の発現（例えば細胞表面での発現）の低減および/または機能の低下（例えば細胞内シグナル伝達の低減）がもたらされ得る。隠れたスプライス部位を少なくするか、または排除するために最適化されている、抗 ROR1 CAR タンパク質をコードするポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。また、発現のためにコドンが最適化されており、かつ/または1つもしくは複数の配列（例えば、スプライス部位についての、本明細書における方法もしくは観察結果によって同定される配列）が存在し、かつ/または同定されたスプライス部位（例えば本明細書における任意の同定されたスプライス部位）が存在しない、抗 ROR1 CARタンパク質をコードするポリヌクレオチドも、本明細書において提供される。提供されるポリヌクレオチドの中には、特定の条件下で発現する場合および/または特定の細胞型（例えばヒトT細胞、例えばヒト初代T細胞）に導入された場合に特定の度合いより低いRNA不均一性またはスプライス形態を示すもの、ならびに、かかるポリペプチドを含有しかつ/またはかかる特性を示す、細胞および組成物および製造物品がある。いくつかの態様において、転写されたRNAのRNA不均一性は、隠れたスプライス部位を除去するためかつ/またはコドン最適化によって改変されていないポリヌクレオチドと比べて、10%もしくは約10%より大きく、15%もしくは約15%より大きく、20%もしくは約20%より大きく、25%もしくは約25%より大きく、30%もしくは約30%より大きく、40%もしくは約40%より大きく、50%もしくは約50%より大きく、またはそれより大きく低減される。いくつかの態様において、抗 ROR1 CARをコードする提供されるポリヌクレオチドが示す転写されたRNAのRNA均一性は、少なくとも、70%、75%、80%、85%、90%、もしくは95%、またはそれより大きい。

【0423】

RNA不均一性は、本明細書において提供されるか、または報告されているか、または公知のいくつかの方法の任意のものによって求められ得る。いくつかの態様において、転写された核酸のRNA不均一性は、転写された核酸を（例えば逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）によって）増幅させた後、1種または複数種の増幅産物において1つまたは複数の違い（例えばサイズの違い）を検出することにより、求められる。いくつかの態様において、RNA不均一性は、異なるサイズの増幅産物の数または種々の異なるサイズの増幅産物の割合に基づいて求められる。いくつかの態様において、RNA（例えば全RNAまたは細胞質内ポリアデニル化RNA）は、最適化対象の導入遺伝子を発現する細胞から回収され、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）により、5'非翻訳領域（5'UTR）に特異的であり、いくつかの場合では発現ベクター内のプロモーター配列の一部に対応し、転写されたRNA内において該導入遺伝子上流に位置するプライマーと、3'非翻訳領域（3'UTR）に特異的であり、転写されたRNA配列内において発現された導入遺伝子下流に位置するプライマーまたは該導入遺伝子内の配列に特異的なプライマーとを用いて増幅される。特定の態様において、5'非翻訳領域（UTR）内の配列に相補的な少なくとも1種のプライマーおよび3'非翻訳領域（UTR）内の配列に相補的な少なくとも1種のプライマーが導入遺伝子を増幅するために使用される。いくつかの方法によってRNA、例えばメッセンジャーRNAが分割され、その不均一性が解析され得る。非限定的で例示的な方法としてはアガロースゲル電気泳動、チップベースのキャピラリー電気泳動、分析用遠心分離、フィールドフローフラクショネーションおよびクロマトグラフィー、例えばサイズ排除クロマトグラフィーまたは液体クロマトグラフィーが挙げられる。

【0424】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗 ROR1 CARをコードする提供されるポリヌクレオチドまたは本明細書において提供される構築物は、スプライス事象および/または発現の低減および/またはRNA不均一性の増大に寄与し得る1つまたは複数のスプライスドナー部位および/またはスプライスアクセプター部位を除去するための改変を含む。いくつかの態様において、提供されるポリヌクレオチドは、スプライス事象が排除

または低減されるようにスペーサー領域内の1個または複数のポリヌクレオチドが改変される。

【0425】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:111、120、102、または129に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:114、123、105、または131に示される配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:111に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:114に示される配列を含むV_Lをコードする核酸とを含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:120に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:123に示される配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:102に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:105に示される配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:129に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:131に示される配列を含む、V_Lをコードする核酸を含む。

10

【0426】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:117、126、108、または133に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:117に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:126に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:108に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:133に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む。

20

【0427】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:136に示される配列を含む、スペーサーをコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:139に示される配列を含む、スペーサーをコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:196に示される配列を含む、スペーサーをコードする核酸を含む。

30

【0428】

ROR1に特異的な例示的なキメラ抗原受容体（CAR）および本明細書に記載の例示的なCARのいずれかの全部または一部分、断片、ドメイン、もしくは鎖をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドが提供される。いくつかの態様において、例示的な該CARは、1つのROR1結合抗体断片、例えばセクションI.Aおよび/または表2に記載のものを含む。いくつかの態様において、例示的な該CARの中には、表E1および/または表3の各行に記載のものがある。また、該CARをコードするポリヌクレオチドが本明細書において提供される。いくつかの態様において、CARは、複数の異なるポリヌクレオチド（例えば2つまたはそれ以上のポリヌクレオチド）によってコードされ得る。いずれかのかかる態様のいくつかにおいて、2つまたはそれ以上のポリヌクレオチドは、各々、該CARの一部分、断片、ドメイン、または鎖をコードする核酸を含み得る。

40

【0429】

また、例示的な改変型ポリヌクレオチド、例えば、コドン最適化（O）および/またはスプライス部位排除（SSE）のために改変されたポリヌクレオチドが本明細書において提供される。かかるポリヌクレオチドのSEQ ID NO:の例を表3に示しており、表中に、スプライス部位排除およびコドン最適化前（N/O）の例示的な該CAR構築物の構成要素の例示的なヌクレオチド（nt）配列、スプライス部位排除および最適化後（O/SSE）の該CAR構築物の構成要素の核酸（nt）配列、ならびに該核酸配列によってコードされる対応するアミ

50

ノ酸 (aa) 配列を示している。該構成要素は、抗ROR1 scFv、スペーサー、膜貫通 (tm) ドメイン、4-1BB共刺激シグナル伝達領域配列 (costim)、CD3 ζ シグナル伝達ドメイン (CD3 ζ) を含む。また、スプライス部位排除および最適化後の例示的な該CARの完全配列 (CAR) も示している。いくつかの場合において、該ポリヌクレオチドは、CD33シグナル配列 (ss)、T2Aリボソームスキップエレメント (T2A) および短縮型EGF受容体 (EGFRt) 配列もまた含む。例示的なCARのポリヌクレオチド配列を、SEQ ID NO:184~189に示されるアミノ酸配列をコードするSEQ ID NO:156~161に示す。

【0430】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:156、157、158、159、160もしくは161に示される配列、またはSEQ ID NO:156、157、158、159、160もしくは161に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:156に示される配列、またはSEQ ID NO:156に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:156に示される配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:157に示される配列、またはSEQ ID NO:157に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:157に示される配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:158に示される配列、またはSEQ ID NO:158に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:158に示される配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:159に示される配列、またはSEQ ID NO:159に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:159に示される配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:160に示される配列、またはSEQ ID NO:160に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:160に示される配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:161に示される配列、またはSEQ ID NO:161に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:161に示される配列を含む。

【0431】

いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:184、185、186、187、188もしくは189に示される配列をコードする核酸、またはSEQ ID NO:184、185、186、187、188もしくは189に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すポリペプ

10

20

30

40

50

チド配列をコードする配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:184に示される配列をコードする核酸、またはSEQ ID NO:184に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すポリペプチド配列をコードする配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:184に示される配列をコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:185に示される配列をコードする核酸、またはSEQ ID NO:185に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すポリペプチド配列をコードする配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:185に示される配列をコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:186に示される配列をコードする核酸、またはSEQ ID NO:186に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すポリペプチド配列をコードする配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:186に示される配列をコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:187に示される配列をコードする核酸、またはSEQ ID NO:187に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すポリペプチド配列をコードする配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:187に示される配列をコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:188に示される配列をコードする核酸、またはSEQ ID NO:188に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すポリペプチド配列をコードする配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:188に示される配列をコードする核酸を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:189に示される配列をコードする核酸、またはSEQ ID NO:189に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すポリペプチド配列をコードする配列を含む。いずれかの態様のいくつかにおいて、前記ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:189に示される配列をコードする核酸を含む。

【0432】

(表3) 例示的なROR1結合CARの構成要素 (SEQ ID NO:)

10

20

30

40

50

ヌクレオチド(nt)												
		scFv		スペーサー		TM		4-1BB		CD3 ζ		CAR
CAR #	scFv#	N/O	O/SS E	N/O	O/SS E	N/O	O/SS E	N/O	O/SS E	N/O	O/SS E	O/SS E
F	ROR1-1	116	117	192	136	197	198	154	155	182	150	156
A	ROR1-2	125	126	192	136	197	198	154	155	182	150	157
G	ROR1-1	116	117	193	139	197	198	154	155	182	150	158
I	ROR1-3	107	108	193	139	197	198	154	155	182	150	159
R	ROR1-2	125	126	193	139	197	198	154	155	182	150	160
B1	ROR1-4	132	133	193	139	197	198	154	155	182	150	161
アミノ酸(aa)												
CAR #	scFv#	scFv	スペーサー	T M	4-1BB	CD3z	CAR					
F	ROR1-1	118	135	8	12	13	184					
A	ROR1-2	127	135	8	12	13	185					
G	ROR1-1	118	138	8	12	13	186					
I	ROR1-3	109	138	8	12	13	187					
R	ROR1-2	127	138	8	12	13	188					
B1	ROR1-4	134	138	8	12	13	189					

【0433】

II. 改変細胞

また、本明細書に記載の抗ROR1抗体または断片を含む細胞外ドメインを含むものなどの組換え受容体（例えば、キメラ抗原受容体）を含む細胞、例えば改変細胞が提供される。また、かかる細胞の集団、かかる細胞を含有している組成物、および/またはかかる細胞が濃縮されている組成物、例えばROR1結合分子を発現する細胞が組成物中の全細胞またはある特定の型の細胞（例えばT細胞もしくはCD8+細胞もしくはCD4+細胞）の少なくとも50、60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99%、またはそれ以上を構成している組成物が提供される。組成物の中には、投与のための、例えば養子細胞療法のための、薬学的組成物および薬学的製剤がある。また、該細胞および組成物を対象、例えば患者に投与するための治療方法が提供される。

【0434】

したがって、抗体を含む組換え受容体を発現する遺伝子改変細胞、例えばCARを含む細胞もまた提供される。細胞は、概して真核生物細胞、例えば哺乳動物細胞であり、典型的にはヒト細胞である。いくつかの態様において、細胞は、血液、骨髓、リンパまたはリンパ球系器官に由来し、免疫系の細胞、例えば自然免疫または適応免疫の細胞、例えば骨髓系またはリンパ球系の細胞、例えばリンパ球、典型的にはT細胞および/またはNK細胞である。他の例示的な細胞としては、幹細胞、例えば多分化能幹細胞および多能性幹細胞、例えば誘導多能性幹細胞（iPSC）が挙げられる。細胞は典型的には初代細胞、例えば対象から直接単離されたもの、および/または対象から単離され、凍結されたものである。いくつかの態様において、細胞は、T細胞または他の細胞型の1つまたは複数のサブセット、例えば全T細胞集団、CD4+細胞、CD8+細胞およびその亜集団、例えば機能、活性化状態、成熟度、分化、拡大増殖、再循環、局在化および/または持続能力についての潜在能、抗原特異性、抗原受容体の型、特定の器官もしくは区画における存在、マーカーもしくはサイトカインの分泌プロファイルおよび/または分化度によって規定されるものを含む。処置される対象に対して、細胞は同種異系および/または自己であり得る。当該方法の中には、オフザシェルフ（off-the-shelf）法が含まれる。いくつかの局面では、例えばオフザシェルフ技術では、細胞は多能性および/または多分化能の例えば幹細胞、例えば誘導多能性幹細胞（iPSC）である。いくつかの態様において、方法は、細胞を対象から単離すること、

当該細胞を本明細書に記載されるようにして調製、加工処理、培養および/または改変すること、ならびに冷凍保存の前または後に当該細胞を同じ患者に再導入することを含む。

【0435】

T細胞のサブタイプおよび亜集団および/またはCD4+のサブタイプおよび亜集団および/またはCD8+T細胞のサブタイプおよび亜集団の中には、ナイーブT (TN) 細胞、エフェクターT細胞 (TEFF)、メモリーT細胞およびそのサブタイプ、例えば幹細胞メモリーT (TSCM)、セントラルメモリーT (TCM)、エフェクターメモリーT (TEM) もしくは最終分化エフェクターメモリーT細胞、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、未成熟T細胞、成熟T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、粘膜関連インバリアントT (MAIT) 細胞、天然に存在する適応性制御性T (Treg) 細胞、ヘルパーT細胞、例えばTH1細胞、TH2細胞、TH3細胞、TH17細胞、TH9細胞、TH22細胞、濾胞性ヘルパーT細胞、 α/β T細胞ならびに δ/γ T細胞がある。

10

【0436】

いくつかの態様において、細胞はナチュラルキラー (NK) 細胞である。いくつかの態様において、細胞は単球または顆粒球、例えば骨髄性細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、マスト細胞、好酸球および/または好塩基球である。

【0437】

いくつかの態様において、細胞は、遺伝子改変によって導入された1種類または複数種のポリヌクレオチドを含み、それによりかかるポリヌクレオチドの組換え産物または遺伝子改変産物を発現する。いくつかの態様において、当該ポリヌクレオチドは異種である、すなわち、細胞内または当該細胞から得られる試料中には通常存在しない、例えば別の生物体もしくは別の細胞から得られるものであって、例えば改変対象の細胞および/またはかかる細胞が由来する生物体には通常みられないものである。いくつかの態様において、当該ポリヌクレオチドは天然に存在しないもの、例えば自然界にみられないポリヌクレオチド、例えば、複数の異なる細胞型に由来する種々のドメインをコードするキメラポリヌクレオチドの組合せを含むものである。いくつかの態様において、細胞 (例えば、改変細胞) は、本明細書に記載のベクター (例えば、ウイルスベクター、発現ベクターなど)、例えば本明細書に記載される組換え受容体をコードする核酸を含むベクターを含む。

20

【0438】

A. 遺伝子改変のためのベクターおよび方法

30

また、該抗体および/または一部分、例えばその鎖をコードする核酸、例えばポリヌクレオチドが提供される。提供される核酸の中には、本明細書に記載の抗ROR1抗体 (例えば、抗原結合断片) をコードするものがある。また、1つまたは複数の抗体および/またはその一部分をコードする核酸、例えばポリヌクレオチド、例えば本明細書に記載の抗ROR1抗体 (例えば、抗原結合断片) のうちの1つもしくは複数および/または他の抗体および/またはその一部分、例えば他の標的抗原に結合する抗体および/またはその一部分をコードするものが提供される。また、結合分子 (例えば、抗ROR1結合分子)、例えば該結合分子を含む組換え受容体 (例えば、CAR) を発現させるための、およびかかる結合分子を発現している遺伝子改変細胞を作製するための方法、核酸、組成物およびキットが提供される。いくつかの態様において、1つまたは複数の結合分子、例えば組換え受容体 (例えば、CAR) で1種または複数種の細胞が遺伝子改変され得る。遺伝子改変は、概して、該組換え構成要素または改変構成要素をコードする核酸を、例えばレトロウイルスによる形質導入、トランスフェクション、または形質転換により、細胞内に導入することを伴う。

40

【0439】

核酸には、天然のヌクレオチドおよび塩基を含んでいるものおよび/または天然に存在していないヌクレオチドおよび塩基を含んでいるもの、例えば主鎖修飾を有するものなどが包含され得る。用語「核酸分子」、「核酸」および「ポリヌクレオチド」は互換的に使用され得、ヌクレオチドのポリマーを示す。かかるヌクレオチドのポリマーは、天然および/または非天然のヌクレオチドを含み得、非限定的にDNA、RNAおよびPNAが包含され得る。「核酸配列」は、核酸分子またはポリヌクレオチドを構成するヌクレオチドの線形配列

50

を示す。いくつかの局面において、本明細書において提供される抗体またはその抗原結合断片の少なくとも一部分、例えばscFv、コンジュゲート、受容体（例えば、CAR）をコードする核酸配列は、ヒト細胞内での発現用に最適化（例えばコドンが最適化）されていてもよく、かつ/または隠れたスプライス部位を少なくするか、もしくは排除するために最適化されていてもよい。

【0440】

いくつかの態様において、該ポリヌクレオチドは、1つまたは複数の追加の配列、例えば1つまたは複数の追加の分子、例えばマーカーをコードするもの、あるいはプロモーター、調節エレメントおよび/またはマルチシストロン性エレメントもまた含む。いくつかの態様において、提供されるポリヌクレオチドは、本明細書、例えばセクションI.Eに記載のポリヌクレオチドのいずれかを含む。

10

【0441】

また、該核酸、例えばポリヌクレオチドを含むベクター、および例えば該抗体またはその抗原結合断片を産生させるための、該ベクターを含む宿主細胞が提供される。また、該抗体またはその抗原結合断片を産生させるための方法が提供される。該核酸は、抗体（例えば、抗体の軽鎖および/または重鎖）のV_L領域を含むアミノ酸配列および/またはV_H領域を含むアミノ酸配列をコードし得る。該核酸は、抗体（例えば、抗体の軽鎖および/または重鎖）のV_L領域を含む1つもしくは複数のアミノ酸配列および/またはV_H領域を含むアミノ酸配列をコードし得る。いくつかの態様において、該核酸、例えばポリヌクレオチドは、抗体の1つもしくは複数のV_H領域および/または1つもしくは複数のV_L領域を任意の順序または向きでコードしている。いくつかの態様において、該核酸、例えばポリヌクレオチドはV_H領域およびV_L領域をコードしており、V_H領域のコード配列はV_L領域のコード配列の上流である。いくつかの態様において、該核酸、例えばポリヌクレオチドはV_H領域およびV_L領域をコードしており、V_L領域のコード配列はV_H領域のコード配列の上流である。

20

【0442】

また、該核酸、例えばポリヌクレオチドを含むベクター、および該ベクターを含む改変細胞、例えば該結合分子、例えば組換え受容体を発現している改変免疫細胞が提供される。また、細胞、例えば免疫細胞を、抗ROR1結合分子、例えば組換え受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）を発現するように改変するための方法が提供される。該核酸は、細胞外抗原結合ドメインとしての抗体（例えば、抗体の軽鎖および/または重鎖）のV_L領域を含むアミノ酸配列および/またはV_H領域を含むアミノ酸配列；膜貫通ドメインならびに細胞内ドメイン、例えばCD3ζならびに共刺激シグナル伝達ドメインをコードし得る。

30

【0443】

さらなる一態様において、かかるポリヌクレオチドを含む1種類または複数種のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる一態様において、かかるポリヌクレオチドを含む宿主細胞が提供される。かかる一態様において、宿主細胞は、抗体のV_H領域を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクターを含む（例えば、該ベクターを用いて形質転換されている）。別のかかる態様において、宿主細胞は、（1）抗体のV_L領域を含むアミノ酸配列および該抗体のV_H領域を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクターまたは（2）抗体のV_L領域を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクターおよび該抗体のV_H領域を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクターを含む（例えば、該ベクターを用いて形質転換されている）。いくつかの態様において、宿主細胞は、1つもしくは複数の抗体および/またはその一部分、例えばその抗原結合断片を含む1つまたは複数のアミノ酸配列をコードする1つまたは複数の核酸を含む1つまたは複数のベクターを含む（例えば、該ベクターを用いて形質転換されている）。いくつかの態様において、1つまたは複数のかかる宿主細胞が提供される。いくつかの態様において、1つまたは複数のかかる宿主細胞を含む組成物が提供される。いくつかの態様において、該1つまたは複数の宿主細胞は異なる抗体または同じ抗体を発現し得る。いくつかの態様において、宿主細胞の各々は1つより多くの抗体を発現し得る。

40

【0444】

50

また、抗ROR1キメラ抗原受容体の作製方法が提供される。該キメラ受容体の組換え產生のため、例えば本明細書に記載のキメラ受容体の抗体をコードする核酸配列が単離され、宿主細胞内でのさらなるクローニングおよび/または発現のための1つまたは複数のベクター内に挿入され得る。かかる核酸配列は、慣用的な手順を用いて（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより）容易に単離され、シーケンシングされ得る。いくつかの態様において、上記に示したような、抗体をコードする核酸配列を含む宿主細胞を、該受容体の発現に適した条件下で培養することを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体の作製方法が提供される。

【0445】

また、抗ROR1抗体（例えば、抗原結合断片）の作製方法が提供される。抗ROR1抗体の組換え產生のため、例えば上記のような抗体をコードする核酸配列またはポリヌクレオチドが単離され、宿主細胞内でのさらなるクローニングおよび/または発現のための1つまたは複数のベクター内に挿入され得る。かかる核酸配列は、慣用的な手順を用いて（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより）容易に単離され、シーケンシングされ得る。いくつかの態様において、上記に示したような、抗体をコードする核酸配列を含む宿主細胞を、該抗体の発現に適した条件下で培養すること、および任意で該抗体を該宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収することを含む、抗ROR1抗体の作製方法が提供される。

【0446】

原核生物に加えて、真核生物系微生物、例えば糸状菌または酵母、例えば、ヒト細胞内のものを模倣または近似して一部または完全ヒトグリコシル化パターンを有する抗体の產生がもたらされるようにグリコシル化経路が改変されている真菌株および酵母株も抗体コードベクターの好適なクローニングまたは発現用の宿主である。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22: 1409-1414 (2004)およびLi et al., *Nat. Biotech.* 24: 210-215 (2006)を参照のこと。

【0447】

ポリペプチドを発現させるために使用され得る例示的な真核生物細胞としては、非限定的に、COS細胞、例えばCOS 7細胞；293細胞、例えば293-6E細胞；CHO細胞、例えばCHO-S、DG44.Lec13 CHO細胞およびFUT8 CHO細胞；PER.C6（登録商標）細胞；ならびにNSO細胞が挙げられる。いくつかの態様において、抗体の重鎖および/または軽鎖（例えば、V_H領域および/またはV_L領域）は酵母において発現させ得る。例えば、米国特許出願公開第2006/0270045A1号を参照のこと。いくつかの態様において、特定の真核生物宿主細胞は、重鎖および/または軽鎖（例えば、V_H領域および/またはV_L領域）に対して所望の翻訳後修飾を行なうその能力に基づいて選択される。例えば、いくつかの態様において、CHO細胞は、293細胞において產生される同じポリペプチドより高レベルのシアリル化を有するポリペプチドを產生する。

【0448】

いくつかの態様において、本明細書において提供される抗体または抗原結合断片は無細胞系内で作製される。例示的な無細胞系は、例えばSitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009)；Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004)；Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003)に記載されている。

【0449】

提供される態様は、該抗体および他の抗原結合タンパク質を発現および產生させるためのベクターおよび宿主細胞および他の発現系、例えば真核生物宿主細胞および原核生物宿主細胞、例えば細菌、糸状菌および酵母ならびに哺乳動物細胞、例えばヒト細胞、ならびに無細胞発現系をさらに含む。

【0450】

いくつかの態様において、遺伝子導入（gene transfer）は以下により行なわれる：まず、例えば細胞を増殖、生存、および/または活性化（例えば、サイトカインまたは活性化

10

20

30

40

50

マーカーの発現によって測定される)などの応答を誘導する刺激と合わせることによって、細胞を刺激し、その後、活性化された細胞の形質導入(transduction)を行い、臨床応用に十分な数まで培養して拡大増殖させる。

【0451】

いくつかの状況において、刺激性因子(例えば、リンホカインまたはサイトカイン)の過剰発現は対象にとって毒性であり得る。したがって、いくつかの状況において、改変細胞は、例えば養子免疫療法において投与すると当該細胞がインビボでネガティブ選択に敏感になるようにする遺伝子セグメントを含む。例えば、いくつかの局面において、細胞は、当該細胞が投与される患者のインビボ状態の変化の結果、排除され得るように改変される。ネガティブ選択可能表現型は、投与される薬剤、例えば化合物に対する感受性を付与する遺伝子の挿入によってもたらされ得る。ネガティブ選択可能遺伝子としては、ガンシクロビル感受性を付与する単純ヘルペスウイルスI型チミジンキナーゼ(HSV-I TK)遺伝子(Wigler et al., Cell 2: 223, 1977);細胞性ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HPRT)遺伝子、細胞性アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(APRT)遺伝子、細菌性シトシンデアミナーゼ(Mullen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. US A, 89: 33 (1992))が挙げられる。

【0452】

いくつかの局面では、細胞はさらに、サイトカインまたは他の因子の発現が促進されるように改変される。遺伝子改変された構成要素、例えば抗原受容体(例えばCAR)の導入のための種々の方法が周知であり、提供される方法および組成物と共に使用され得る。例示的な方法としては、当該受容体をコードするポリヌクレオチドの移入のためのもの、例えば、ウイルス、例えばレトロウイルスまたはレンチウイルスによる形質導入、トランスポゾンおよびエレクトロポレーションによるものが挙げられる。

【0453】

いくつかの態様において、組換えポリヌクレオチドは、例えばシミアンウイルス40(SV40)、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス(AAV)に由来するベクターなどの感染性の組換えウイルス粒子を用いて、細胞内に移入される。いくつかの態様において、組換えポリヌクレオチドは、組換えレンチウイルスベクター、例えばHIV-1レンチウイルスベクター(レンチベクター;例えばAmado et al., Science, 1999 Jul 30;285(5428):674-676参照)、またはレトロウイルスベクター、例えばγ-レトロウイルスベクター(例えば、Koste et al. (2014) Gene Therapy 2014 Apr 3. doi:10.1038/gt.2014.25; Carlens et al. (2000) Exp Hematol 28(10):1137-46; Alonso-Camino et al. (2013) Mol Ther Nucl Acids 2, e93; Park et al., Trends Biotechnol. 2011 November 29(11):550-557参照)を用いて、T細胞内に移入される。

【0454】

いくつかの態様において、レトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターは長い末端反復配列(LTR)を有する。いくつかの態様において、当該ベクターは、モロニー Maus 白血病ウイルス(MoMLV)、骨髄増殖性肉腫ウイルス(MPSV)、マウス胚幹細胞ウイルス(MESV)、マウス幹細胞ウイルス(MSCV)、脾限局巣形成ウイルス(SFFV)、ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)、またはヒト免疫不全ウイルス2型(HIV-2/SIV)に由来する。いくつかの態様において、当該ベクターは自己不活性型(SIN)である。いくつかの態様において、当該ベクターは条件複製開始型(可動性)ベクターである。ほとんどのレンチウイルスベクターはヒト、ネコまたはサルレンチウイルスに由来する。ほとんどのレトロウイルスベクターはマウスレトロウイルスに由来する。いくつかの態様において、レンチウイルスまたはレトロウイルスとしては、任意の鳥類細胞供給源または哺乳動物細胞供給源に由来するものが挙げられる。当該レンチウイルスまたはレトロウイルスは典型的には、ヒトを含むいくつかの種の宿主細胞に感染することができることを意味する両種性である。一態様において、発現させる遺伝子はレトロウイルスのgag、polおよび/またはenv配列と置き換わる。レンチウイルスによる形質導入の方法は公知である。例示的な方法は、例えばWang et al. (2012) J. Immunother. 35 (9):689-701; Coop

er et al. (2003) *Blood*. 101:1637-1644 ; Verhoeyen et al. (2009) *Methods Mol Biol*. 506:97-114 ; および Cavalieri et al. (2003) *Blood*. 102 (2): 497-505 に記載されている。いくつかの例示的なレトロウイルスの系も報告されている（例えば、Amado et al., (1999) *Science* 285 (5428) :674-676、米国特許第5,219,740号；同第6,207,453号；同第5,219,740号；Miller and Rosman (1989) *BioTechniques* 7:980-990；Miller (1990) *Human Gene Therapy* 1:5-14；Scarpa et al. (1991) *Virology* 180:849-852；Burns et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:8033-8037；および Boris-Lawrie and Temin (1993) *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3:102-109）。

【0455】

いくつかの態様において、組換えポリヌクレオチドは、エレクトロポレーションによってT細胞内に移入される（例えばChicaybam et al, (2013) *PLoS ONE* 8 (3) :e60298 および Van Tedeloo et al. (2000) *Gene Therapy* 7 (16) :1431-1437 参照）。いくつかの態様において、組換えポリヌクレオチドは、転位（transposition）によってT細胞内に移入される（例えばManuri et al. (2010) *Hum Gene Ther* 21 (4): 427-437；Sarma et al. (2013) *Molec Ther Nucl Acids* 2,e74；およびHuang et al. (2009) *Methods Mol Biol* 506:115-126 参照）。免疫細胞内に遺伝物質を導入して発現させる他の方法としては、リン酸カルシウムトランスフェクション（例えば、*Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, N.Y. に記載の通り）、プロトプラスト融合、カチオン性リポソーム媒介性トランスフェクション；タングステン粒子助長型微粒子ボンバードメント（Johnston (1990) *Nature* 346:776-777）；およびリン酸ストロンチウムDNA共沈降（Brash et al., (1987) *Mol. Cell Biol.* 7:2031-2034）が挙げられる。組換え産物をコードするポリヌクレオチドの移入のための他のアプローチおよびベクターは、例えば、WO2014055668 および米国特許第7,446,190号に記載のものである。

【0456】

導入のための追加のポリヌクレオチド（例えば遺伝子）の中には、例えば移入される細胞の生存性および/または機能を向上させることによって治療の転帰を改善するためのもの；例えばインビボでの生存または局在を評価するための、当該細胞の選択および/または査定用の遺伝子マーカーをもたらすための遺伝子；Lupton S. D. et al., *Mol. and Cell Biol.*, 11:6 (1991)；および Riddell et al., *Human Gene Therapy* 3: 319-338 (1992) に記載のような、例えば当該細胞をネガティブ選択に対してインビボで敏感にすることによって安全性を改善するための遺伝子がある；また、ドミナントポジティブ選択可能マーカーをネガティブ選択可能マーカーと融合させることにより得られる二元機能性の選択可能融合遺伝子の使用が記載された Lupton et al. による PCT/US91/08442 および PCT/US94/05601 の公報も参照のこと。例えば、Riddell et al. の米国特許第6,040,177号の第14～17欄を参照のこと。

【0457】

いくつかの態様において、ベクターまたは構築物は、プロモーターおよび/またはエンハンサーあるいはコードされている組換え受容体の発現を調節するための調節エレメントを含み得る。いくつかの例において、プロモーターおよび/またはエンハンサーあるいは調節エレメントは条件依存性のプロモーター、エンハンサーおよび/または調節エレメントであり得る。いくつかの例では、このエレメントは導入遺伝子の発現を駆動するものである。いくつかの例では、CAR 導入遺伝子が、プロモーター、例えば HTLV1 エンハンサーを伴う EF1 α プロモーター（SEQ ID NO:164）に機能的に連結され得る。いくつかの例では、CAR 導入遺伝子が、導入遺伝子の下流に位置するウッドチャック肝炎ウイルス（WHP）転写後調節エレメント（WPRE；SEQ ID NO:165）に機能的に連結される。

【0458】

いくつかの態様において、ベクターまたは構築物は、1つまたは複数の核酸分子の発現を駆動する単一のプロモーターを含み得る。いくつかの態様において、かかる核酸分子、

10

20

30

40

50

例えば転写物はマルチシストロン性（バイシストロン性またはトリシストロン性、例えば米国特許第6,060,273号参照）であり得る。例えば、いくつかの態様において、転写単位は、IRES（内部リボソーム進入部位）を含むバイシストロン性単位として改変され得、これにより、単一のプロモーターによるメッセージによって遺伝子産物（例えば第1のキメラ受容体をコードするものと第2のキメラ受容体をコードするもの）の共発現が可能となる。例えば、いくつかの態様において、ベクターまたは構築物は、単一のプロモーターの調節下の本明細書において提供される抗ROR1受容体（例えば、抗ROR1 CAR）をコードする核酸および異なる分子をコードする核酸をIRESによって隔てられた状態で含み得る。

【0459】

あるいは、いくつかの場合において、単一のプロモーターは、単一のオープンリーディングフレーム（ORF）内に、自己切断性ペプチドをコードする配列（例えば、2A切断性配列）またはプロテアーゼ認識部位（例えば、フューリン）によって互いに隔てられた2つまたは3つの遺伝子（例えば、第1および第2の結合分子、例えば抗体 組換え受容体をコードするもの）を含むRNAの発現を指令し得る。したがって、ORFは、翻訳中（T2Aの場合）または翻訳後のいずれかで個々のタンパク質に切断される単一のポリペプチドをコードする。いくつかの場合において、該ペプチド、例えばT2Aは、リボソームが2AエレメントのC末端におけるペプチド結合の合成をスキップすること（リボソームスキッピング）を引き起こし、2A配列の末端と下流側の次のペプチド間の分離をもたらし得る（例えばde Felipe, Genetic Vaccines and Ther. 2: 13 (2004)およびdeFelipe et al. Traffic 5: 616-626 (2004)参照）。多くの2Aエレメントが公知である。本明細書に開示の方法およびポリヌクレオチドに使用され得る2A配列の例、非限定的に、米国特許出願公開第20070116690号に記載の口蹄疫ウイルス（F2A、例えばSEQ ID NO:21または168）、ウマ鼻炎Aウイルス（E2A、例えばSEQ ID NO:20または167）、トセア・アシグナ（Thosea asigna）ウイルス（T2A、例えばSEQ ID NO:6、17、または166）およびブタデシオウイルス-1（P2A、例えばSEQ ID NO:18または19）に由来する2A配列。いくつかの態様において、該1つまたは複数の異なるかまたは別個のプロモーターは、該1つまたは複数の結合分子、例えば組換え受容体をコードする1つまたは複数の核酸分子の発現を駆動する。

【0460】

本明細書において提供される任意の組換え受容体、例えば抗ROR1組換え受容体および/または該追加の組換え受容体は、該受容体をコードする1つまたは複数の核酸分子を含むポリヌクレオチドによって任意の組合せまたは構成でコードされ得る。例えば、1つ、2つ、3つまたはそれ以上のポリヌクレオチドが、1つ、2つ、3つまたはそれ以上の異なる受容体またはドメインをコードし得る。いくつかの態様において、あるベクターまたは構築物が、1つまたは複数の組換え受容体をコードする核酸分子を含み、別個のベクターまたは構築物が、追加の結合分子、例えば抗体および/または組換え受容体、例えば抗ROR1受容体（例えば、抗ROR1 CAR）をコードする核酸分子を含む。

【0461】

いくつかの態様において、該核酸分子は、該受容体を発現させるための細胞の形質導入または改変を確認するために使用され得る1つまたは複数のサロゲートマーカー、例えば蛍光タンパク質（例えば、緑色蛍光タンパク質（GFP））または細胞表面マーカー（例えば、短縮型表面マーカー、例えば短縮型EGFR（tEGFR）もまたコードしていてもよい。例えば、いくつかの局面において、外因性マーカー遺伝子が、細胞の検出または選択を可能にするため、また、いくつかの場合ではADCCによる細胞の自殺を促進させるために改変細胞療法との関連において利用される。例示的なマーカー遺伝子としては、関心対象（例えば、CARまたはTCR）の導入遺伝子と共に形質導入細胞において共発現され得る短縮型上皮成長因子受容体（EGFRt）が挙げられる（例えば米国特許第8,802,374号参照）。EGFRtは、抗体セツキシマブ（Erbixux（登録商標））によって認識されるエピトープを含む。この理由で、Erbixux（登録商標）は、例えば別の組換え受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）でも共改変される細胞において、EGFRt構築物で改変されている細胞を同定または選択するために使用され得る。

10

20

30

40

50

【0462】

いくつかの態様において、該結合分子をコードする核酸は、1つまたは複数のマーカーをコードする核酸配列をさらに含む。いくつかの態様において、該1つまたは複数のマーカーは形質導入マーカー、サロゲートマーカーおよび/または選択マーカーである。

【0463】

いくつかの態様において、マーカーは形質導入マーカーまたはサロゲートマーカーである。形質導入マーカーまたはサロゲートマーカーは、該ポリヌクレオチド、例えば組換え受容体をコードするポリヌクレオチドが導入されている細胞を検出するために使用され得る。いくつかの態様において、形質導入マーカーにより細胞の改変が示され得るか、または確認され得る。いくつかの態様において、サロゲートマーカーは、細胞表面上に組換え受容体（例えばCAR）と共に共発現させるタンパク質である。特定の態様において、かかるサロゲートマーカーは、活性をほとんど、または全く有しないように改変されている表面タンパク質である。一部の特定の態様において、サロゲートマーカーは、組換え受容体をコードするものと同じポリヌクレオチド上にコードされる。いくつかの態様において、組換え受容体をコードする核酸配列は、任意で内部リボソーム進入部位（IRES）によって分離されたマーカーをコードする核酸配列または自己切断性ペプチドもしくはリボソームスキッピングを引き起こすペプチドをコードする核酸、例えば2A配列、例えばT2A、P2A、E2AもしくはF2Aに機能的に連結される。外因性マーカー遺伝子は、いくつかの場合において、細胞の検出または選択を可能にするため、また、いくつかの場合では細胞の自殺を促進させるために改変細胞との関連において使用され得る。

【0464】

例示的なサロゲートマーカーとしては、短縮型形態の細胞表面ポリペプチド、例えば、非機能性であり、シグナルもしくは完全長形態の細胞表面ポリペプチドによって通常伝達されるシグナルを伝達しない（to not transduce）か、もしくは伝達することができない、および/または内在化しないか、もしくは内在化することができない短縮型形態が挙げられ得る。例示的な短縮型細胞表面ポリペプチド、例えば、短縮型形態の成長因子または他の受容体、例えば短縮型ヒト上皮成長因子受容体2（tHER2）、短縮型上皮成長因子受容体（tEGFR、SEQ ID NO:7、16、もしくは153に示される例示的なtEGFR配列）または前立腺特異膜抗原（PSMA）あるいはその改変形態。tEGFRは、抗体セツキシマブ（Erbbitux（登録商標））またはtEGFR構築物およびコードされている外来性タンパク質により改変されている細胞を同定もしくは選択するため、および/またはコードされている外来性タンパク質を発現する細胞を排除もしくは分離するために使用され得る他の治療用抗EGFR抗体もしくは結合分子によって認識されるエピトープを含み得る。米国特許第8,802,374号およびLiu et al., Nature Biotech. 2016 April; 34 (4): 430-434）を参照のこと。いくつかの局面において、マーカー、例えばサロゲートマーカーは、CD34、NGFR、CD19もしくは短縮型CD19、例えば短縮型非ヒトCD19または上皮成長因子受容体（例えば、tEGFR）の全部または一部（例えば、短縮型形態）を含む。

【0465】

いくつかの態様において、マーカーは、蛍光タンパク質、例えば緑色蛍光タンパク質（GFP）、蛍光強化型緑色蛍光タンパク質（EGFP）、例えばスーパーフォールド（super-fold）GFP（sfGFP）、赤色蛍光タンパク質（RFP）、例えばtdTomato、mCherry、mStrawberry、AsRed2、DsRedもしくはDsRed2、シアン蛍光タンパク質（CFP）、青緑色蛍光タンパク質（BFP）、蛍光強化型青色蛍光タンパク質（EBFP）および黄色蛍光タンパク質（YFP）ならびにそのバリエーション、例えば種バリエーション、単量体型バリエーション、ならびにこれらの蛍光タンパク質のコドン最適化型および/または蛍光強化型バリエーションであるか、あるいはそれらを含む。いくつかの態様において、マーカーは、酵素、例えばルシフェラーゼ、大腸菌（E.coli）に由来するlacZ遺伝子、アルカリホスファターゼ、分泌型胚性アルカリホスファターゼ（SEAP）、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（CAT）であるか、あるいはそれらを含む。例示的な発光レポーター遺伝子としては、ルシフェラーゼ（luc）、 β -ガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェ

ラーゼ（CAT）、 β -グルクロニダーゼ（GUS）、またはそれらのバリエーションが挙げられる。

【0466】

いくつかの態様において、マーカーは選択マーカーである。いくつかの態様において、選択マーカーは、外来性の薬剤または薬物に対する耐性を付与するポリペプチドであるか、あるいはそれを含む。いくつかの態様において、選択マーカーは抗生物質耐性遺伝子である。いくつかの態様において、選択マーカーは、哺乳動物細胞に抗生物質耐性を付与する抗生物質耐性遺伝子である。いくつかの態様において、選択マーカーは、ピューロマイシン耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子、ブラストサイジン耐性遺伝子、ネオマイシン耐性遺伝子、ジェネティシン耐性遺伝子、もしくはゼオシン耐性遺伝子、またはその改変形態であるか、あるいはそれを含む。

10

【0467】

いくつかの態様において、マーカーをコードする核酸は、リンカー配列、例えば切断可能リンカー配列、例えばT2Aをコードするポリヌクレオチドに機能的に連結される。例えば、マーカーおよび任意でリンカー配列は、PCT国際特許出願公開WO2014031687号に開示された任意のものであり得る。例えば、マーカーは、リンカー配列、例えばT2A切断可能リンカー配列に任意で連結された短縮型EGFR（tEGFR）であり得る。短縮型EGFR（例えば、tEGFR）の例示的なポリペプチドは、SEQ ID NO:7、16、もしくは153に示されるアミノ酸配列、またはSEQ ID NO:7、16、もしくは153に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくはそれより高い配列同一性を示すアミノ酸配列を含む。

20

【0468】

いくつかの態様において、マーカーは、T細胞上すなわちT細胞の表面上に天然にはみられない分子、例えば細胞表面タンパク質またはその一部分である。

【0469】

いくつかの態様において、当該分子は、非自己分子、例えば非自己タンパク質、すなわち、細胞が養子移入される宿主の免疫系によって「自己」と認識されないものである。

【0470】

いくつかの態様において、マーカーは、治療機能を果たさず、かつ/または例えば成功裡に改変された細胞を選択するための遺伝子改変のマーカーとして使用されること以外の効果はもたらさない。他の態様において、マーカーは、治療用分子、または別の様式でいくらかの所望の効果を奏する分子、例えば当該細胞がインビボで出会うリガンド、例えば養子移入されてリガンドと出会うと当該細胞の応答を増強および/または鈍化させる共刺激分子または免疫チェックポイント分子であり得る。

30

【0471】

また、核酸分子、ベクターまたはコンストラクトのうちの1つまたは複数、例えば上記の任意のものを含有する組成物が提供される。いくつかの態様において、核酸分子、ベクター、コンストラクトまたは組成物は、細胞、例えばT細胞を改変して、任意の結合分子、例えば抗体もしくは組換え受容体および/または追加の結合分子を発現させるために使用され得る。

40

【0472】

B. 改変のための細胞の調製

いくつかの態様において、改変細胞の調製は、1つまたは複数の培養および/または調製工程を含む。組換え受容体（例えば、CAR）を導入するための細胞は、生物学的試料などの試料、例えば対象から得られたまたは対象に由来するものから単離され得る。いくつかの態様において、細胞が単離される対象は、疾患もしくは病態を有するか、または細胞療法薬を必要とするか、または細胞療法薬が投与される対象である。いくつかの態様における対象は、細胞が単離、処理、および/または改変されている養子細胞療法薬などの特定の治療的介入を必要とするヒトである。

【0473】

50

したがって、いくつかの態様における細胞は初代細胞、例えば初代ヒト細胞である。試料には、組織、体液、および対象から直接採取した他の試料、ならびに分離、遠心分離、遺伝子改変（例えばウイルスベクターによる形質導入）、洗浄、および/またはインキュベーションなどの1つまたは複数の処理工程から得られる試料が含まれる。生物学的試料は、生物学的供給源から直接得られた試料または処理された試料であり得る。生物学的試料には、血液、血漿、血清、脳脊髄液、滑液、尿および汗などの体液、組織および臓器に由来する処理された試料を含む組織および臓器試料が含まれるが、これらに限定されるわけではない。

【0474】

いくつかの局面では、細胞が由来するまたは単離される試料は、血液もしくは血液由来の試料であるか、またはアフエーシスもしくは白血球アフエーシスの産物であるかもしくはそれに由来する。例示的な試料としては、全血、末梢血単核細胞（PBMC）、白血球、骨髄、胸腺、組織生検材料、腫瘍、白血病、リンパ腫、リンパ節、腸管関連リンパ組織、粘膜関連リンパ組織、脾臓、他のリンパ組織、肝臓、肺、胃、腸、結腸、腎臓、膵臓、乳房、骨、前立腺、子宮頸、精巣、卵巣、扁桃腺、または他の臓器、および/またはそれに由来する細胞が挙げられる。試料には、細胞療法薬、例えば養子細胞療法薬に関連して、自家供給源由来および同種供給源由来の試料が含まれる。

10

【0475】

いくつかの態様において、細胞は、細胞株、例えばT細胞株に由来する。いくつかの態様における細胞は、異種供給源、例えば、マウス、ラット、非ヒト霊長動物、またはブタから得られる。

20

【0476】

いくつかの態様において、細胞の単離は、1つまたは複数の調製および/または非親和性ベースの細胞分離工程を含む。いくつかの例では、細胞は、例えば不要な成分を除去する、所望の成分を濃縮する、特定の試薬に感受性の細胞を溶解または除去するために、洗浄、遠心分離、および/または1つもしくは複数の試薬の存在下でインキュベーションされる。いくつかの例では、細胞は、密度、付着特性、サイズ、感受性、および/または特定の成分に対する耐性などの1つまたは複数の特性に基づいて分離される。

【0477】

いくつかの例では、対象の循環血液に由来する細胞は、例えばアフエーシスまたは白血球アフエーシスによって得られる。試料は、いくつかの局面では、T細胞を含むリンパ球、単球、顆粒球、B細胞、他の有核白血球、赤血球、および/または血小板を含み、いくつかの局面では、赤血球および血小板以外の細胞を含む。

30

【0478】

いくつかの態様において、対象から採集された血球を、例えば血漿画分を除去し、その後の処理工程のために細胞を適切な緩衝液または培地に入れるために洗浄する。いくつかの態様において、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）で細胞を洗浄する。いくつかの態様において、洗浄溶液は、カルシウムおよび/またはマグネシウムおよび/または多くのもしくはすべての二価カチオンを含まない。いくつかの局面では、洗浄工程は、製造業者の指示に従って半自動「フロースルー」遠心分離機（例えばCobe 2991細胞プロセッサ、Baxter）によって達成される。いくつかの局面では、洗浄工程は、製造業者の指示に従って接線流過（TFF）によって達成される。いくつかの態様において、細胞は、洗浄後に、例えば $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ を含まないPBSなどの様々な生体適合性緩衝液に再懸濁される。特定の態様において、血球試料の成分を除去し、細胞を培地に直接再懸濁する。

40

【0479】

いくつかの態様において、方法は、密度に基づく細胞分離方法、例えば赤血球を溶解することによる末梢血からの白血球の調製、およびパーコールまたはフィコール勾配による遠心分離を含む。

【0480】

いくつかの態様において、単離方法は、表面マーカー、例えば表面タンパク質、細胞内

50

マーカー、または核酸などの1つまたは複数の特定の分子の細胞における発現または存在に基づく種々の細胞型の分離を含む。いくつかの態様において、そのようなマーカーに基づく分離のための任意の公知の方法を使用し得る。いくつかの態様において、分離は、親和性または免疫親和性に基づく分離である。例えば、いくつかの局面における単離は、1つまたは複数のマーカー、典型的には細胞表面マーカーの細胞での発現または発現レベルに基づく細胞および細胞集団の分離、例えばそのようなマーカーに特異的に結合する抗体または結合パートナーとのインキュベーション、続いて一般に、洗浄工程および抗体または結合パートナーに結合していない細胞からの抗体または結合パートナーに結合した細胞の分離によるものを含む。

【0481】

そのような分離工程は、試薬に結合した細胞をさらなる使用のために保持するポジティブ選択、および/または抗体もしくは結合パートナーに結合しなかった細胞を保持するネガティブ選択に基づき得る。いくつかの例では、両方の画分をさらなる使用のために保持する。いくつかの局面では、ネガティブ選択は、分離が、所望の集団以外の細胞によって発現されるマーカーに基づいて最も良好に行われるように、異種集団において細胞型を特異的に同定する抗体が利用可能ではない場合に特に有用であり得る。

【0482】

分離は、特定の細胞集団または特定のマーカーを発現する細胞の100%の濃縮または除去をもたらす必要はない。例えば、マーカーを発現する細胞などの特定の種類の細胞のポジティブ選択または濃縮は、そのような細胞の数または割合を増加させることを指すが、マーカーを発現しない細胞の完全な非存在をもたらす必要はない。同様に、マーカーを発現する細胞などの特定の種類の細胞のネガティブ選択、除去、または枯渇は、そのような細胞の数または割合を減少させることを指すが、そのような細胞すべての完全な除去をもたらす必要はない。

【0483】

いくつかの例では、1回の工程からポジティブ選択またはネガティブ選択された画分が、その後のポジティブ選択またはネガティブ選択などの別の分離工程に供される、複数回の分離工程が行われる。いくつかの例では、それぞれがネガティブ選択の標的となるマーカーに特異的な複数の抗体または結合パートナーと共に細胞をインキュベーションすることなどによって、複数のマーカーを同時に発現する細胞を単一の分離工程で除去することができる。同様に、様々な型の細胞上に発現された複数の抗体または結合パートナーと共に細胞をインキュベーションすることによって、複数の細胞型を同時にポジティブ選択することができる。

【0484】

例えば、いくつかの局面では、T細胞の特定の亜集団、例えば1つまたは複数の表面マーカーについて陽性の細胞またはそれらを高レベルに発現する細胞、例えばCD28⁺、CD62L⁺、CCR7⁺、CD27⁺、CD127⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺、および/またはCD45RO⁺T細胞は、ポジティブ選択またはネガティブ選択技術によって単離される。

【0485】

例えば、CD3⁺、CD28⁺T細胞は、抗CD3/抗CD28コンジュゲート磁気ビーズ（例えばDYNABEADS（登録商標）M-450 CD3/CD28T Cell Expander、MACSiBeads（商標）など）を用いてポジティブ選択することができる。

【0486】

いくつかの態様において、単離は、ポジティブ選択による特定の細胞集団の濃縮、またはネガティブ選択による特定の細胞集団の除去によって行われる。いくつかの態様において、ポジティブ選択またはネガティブ選択は、それぞれポジティブ選択またはネガティブ選択された細胞上に発現される（マーカー⁺）または比較的高いレベルで発現される（マーカー^高）1つまたは複数の表面マーカーに特異的に結合する1つまたは複数の抗体または他の結合剤と共に細胞をインキュベーションすることによって達成される。

【0487】

いくつかの態様では、T細胞を、非T細胞、例えばB細胞、単球、または他の白血球細胞、例えばCD14に発現したマーカーのネガティブ選択により、PBMC試料から分離する。いくつかの局面では、CD4+またはCD8+選択工程を用いて、CD4+ヘルパーT細胞およびCD8+細胞傷害性T細胞を分離する。そのようなCD4+およびCD8+集団を、いくつかの局面では、1つまたは複数のナイーブ、メモリー、および/またはエフェクターT細胞亜集団に発現している、または比較的高めに発現しているマーカーのポジティブまたはネガティブ選択により、さらに亜集団へと分別する場合がある。

【0488】

いくつかの態様において、CD8⁺細胞は、それぞれの亜集団に関連する表面抗原に基づくポジティブ選択またはネガティブ選択などによって、ナイーブ、セントラルメモリー、エフェクターメモリー、および/またはセントラルメモリー幹細胞がさらに濃縮または除去される。いくつかの態様において、セントラルメモリーT (T_{CM}) 細胞の濃縮は、いくつかの局面ではそのような亜集団において特に堅固である、投与後の長期生存、拡大増殖、および/または生着を改善するためなどの特定の特徴を増強するために行われる。Terakura et al., (2012) Blood. 1: 72-82; Wang et al., (2012) J Immunother. 35 (9): 689-701参照。いくつかの態様において、TCMに富むCD8⁺T細胞とCD4⁺T細胞とを組み合わせることは、奏効性をさらに増強する。

【0489】

態様において、メモリーT細胞は、CD8⁺末梢血リンパ球のCD62L⁺およびCD62L⁻サブセットの両方に存在する。PBMCは、例えば抗CD8抗体および抗CD62L抗体を使用して、CD62L⁻CD8⁺および/またはCD62L⁺CD8⁺画分を濃縮または除去することができる。

【0490】

いくつかの態様において、セントラルメモリーT (T_{CM}) 細胞の濃縮は、CD45RO、CD62L、CCR7、CD28、CD3、および/またはCD127の陽性または高表面発現に基づく；いくつかの局面では、それは、CD45RAおよび/またはグランザイムBを発現するかまたは高発現する細胞についてのネガティブ選択に基づく。いくつかの局面では、TCM細胞が濃縮されたCD8⁺集団の単離は、CD4、CD14、CD45RAを発現する細胞の除去、およびCD62Lを発現する細胞のポジティブ選択または濃縮によって行われる。一局面では、セントラルメモリーT (TCM) 細胞の濃縮は、CD4発現に基づいて選択された細胞の陰性画分から出発して、これをCD14およびCD45RAの発現に基づくネガティブ選択、ならびにCD62Lの発現に基づくポジティブ選択に供して行われる。いくつかの局面ではそのような選択は同時に行われ、他の局面では連続的にどちらの順序でも行われる。いくつかの局面では、CD8⁺細胞集団または亜集団を調製するのに使用されるのと同じCD4発現に基づく選択工程が、任意で1つまたは複数のさらなるポジティブ選択またはネガティブ選択工程後に、CD4に基づく分離からの陽性および陰性画分の両方が保持され、方法のその後の工程で 사용되는ように、CD4⁺細胞集団または亜集団を生成するためにも用いられる。

【0491】

特定の例では、PBMCの試料もしくは他の白血球試料を、陰性画分と陽性画分の両方が保持されるCD4⁺細胞の選択に供する。次いで、陰性画分を、CD14およびCD45RAの発現に基づくネガティブ選択、ならびにCD62LまたはCCR7などのセントラルメモリーT細胞に特徴的なマーカーに基づくポジティブ選択に供し、ここでポジティブ選択とネガティブ選択はどちらの順序でも行われる。

【0492】

CD4⁺Tヘルパー細胞は、細胞表面抗原を有する細胞集団を同定することによって、ナイーブ細胞、セントラルメモリー細胞、およびエフェクター細胞に分類される。CD4⁺リンパ球は標準的な方法によって得ることができる。いくつかの態様において、ナイーブCD4⁺Tリンパ球は、CD45RO⁻、CD45RA⁺、CD62L⁺、CD4⁺T細胞である。いくつかの態様において、セントラルメモリーCD4⁺細胞はCD62L⁺およびCD45RO⁺である。いくつかの態様において、エフェクターCD4⁺細胞はCD62L⁻およびCD45RO⁻である。

【0493】

一例では、ネガティブ選択によってCD4⁺細胞を濃縮するために、モノクローナル抗体カクテルは、典型的にはCD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、およびCD8に対する抗体を含む。いくつかの態様において、抗体または結合パートナーは、ポジティブ選択および/またはネガティブ選択のための細胞の分離を可能にする、磁気ビーズまたは常磁性ビーズなどの固体支持体またはマトリックスに結合される。例えば、いくつかの態様において、細胞および細胞集団は、免疫磁気（または親和性磁気）分離技術（Methods in Molecular Medicine, vol. 58: Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior In vitro and In vivo, p 17-25 Edited by: S.A. Brooks and U. Schumacher（著作権）Humana Press Inc., Totowa, NJに総説されている）を用いて分離または単離される。

【0494】

いくつかの局面では、分離される細胞の試料または組成物は、小型の磁化可能または磁気応答性材料、例えば磁気応答性粒子または微粒子、例えば常磁性ビーズ（例えばDynabeads（登録商標）またはMACS（登録商標）ビーズなど）と共にインキュベーションされる。磁気応答性材料、例えば粒子は、一般に、分離することを所望する、例えば陰性またはポジティブ選択することを所望する1つまたは複数の細胞、または細胞集団上に存在する分子、例えば表面マーカーに特異的に結合する結合パートナー、例えば抗体に直接または間接的に結合される。

【0495】

いくつかの態様において、磁性粒子またはビーズは、抗体または他の結合パートナーなどの特異的結合成員に結合した磁気応答性材料を含む。磁気分離方法に使用される多くの周知の磁気応答性材料がある。適切な磁性粒子としては、参照により本明細書に組み入れられる、Moldayの米国特許第4,452,773号、および欧州特許第452342B号に記載されているものが挙げられる。Owenの米国特許第4,795,698号およびLibertiらの米国特許第5,200,084号に記載されているもののようなコロイドサイズの粒子が他の例である。

【0496】

インキュベーションは、一般に、抗体もしくは結合パートナー、または磁性粒子もしくはビーズに付着している、そのような抗体もしくは結合パートナーに特異的に結合する二次抗体もしくは他の試薬などの分子が、試料中の細胞上に存在する場合は細胞表面分子に特異的に結合する条件下で行われる。

【0497】

いくつかの局面では、試料を磁場中に置き、磁気応答性粒子または磁化可能粒子が付着している細胞を磁石に引きつけ、非標識細胞から分離する。ポジティブ選択の場合は、磁石に引き寄せられる細胞が保持される；ネガティブ選択の場合は、引き寄せられない細胞（非標識細胞）が保持される。いくつかの局面では、ポジティブ選択とネガティブ選択の組み合わせは同じ選択工程の間に行われ、この場合は陽性画分と陰性画分が保持され、さらに処理されるかまたはさらなる分離工程に供される。

【0498】

特定の態様において、磁気応答性粒子は、一次抗体または他の結合パートナー、二次抗体、レクチン、酵素、またはストレプトアビジンで被覆されている。特定の態様において、磁性粒子は、1つまたは複数のマーカーに特異的な一次抗体のコーティングを介して細胞に付着している。特定の態様において、ビーズではなく細胞を一次抗体または結合パートナーで標識し、次いで細胞型特異的二次抗体または他の結合パートナー（例えばストレプトアビジン）で被覆した磁性粒子を添加する。特定の態様において、ストレプトアビジン被覆磁性粒子を、ビオチン化一次抗体または二次抗体と組み合わせて使用する。

【0499】

いくつかの態様において、磁気応答性粒子は、その後インキュベーション、培養および/または改変されることになる細胞に付着したままである；いくつかの局面では、粒子は患者への投与のための細胞に付着したままである。いくつかの態様において、磁化可能粒子または磁気応答性粒子は細胞から除去される。細胞から磁化可能粒子を除去する方法は公知であり、例えば競合する非標識抗体、磁化可能粒子または切断可能なリンカーなどに結

10

20

30

40

50

合した抗体の使用を含む。いくつかの態様において、磁化可能粒子は生分解性である。

【0500】

いくつかの態様において、親和性に基づく選択は、磁気活性化細胞選別（MACS（登録商標））（Miltenyi Biotec, Auburn, CA）による。磁気活性化細胞選別（MACS（登録商標））システムは、磁化された粒子が付着した細胞の高純度の選択が可能である。特定の態様において、MACS（登録商標）は、外部磁場の印加後に非標的種と標的種が連続的に溶出されるモードで動作する。すなわち、磁化粒子に付着した細胞は、付着していない種が溶出されている間、適所に保持される。次に、この最初の溶出工程が完了した後、磁場に捕捉されて溶出が妨げられていた種は、それらが溶出され、回収され得るように何らかの方法で解放される。特定の態様において、非標的細胞は標識され、細胞の不均一な集団から除去される。

10

【0501】

特定の態様において、単離または分離は、本発明の方法の単離、細胞調製、分離、処理、インキュベーション、培養、および/または製剤化工程のうちの1つまたは複数を実行するシステム、機器、または装置を用いて実施される。いくつかの局面では、システムは、例えばエラー、使用者の取り扱い、および/または汚染を最小限に抑えるために、これらの工程のそれぞれを閉鎖環境または無菌環境で実行するために使用される。一例では、システムは、WO2009/072003、またはUS 20110003380に記載されているシステムである。

【0502】

20

いくつかの態様において、システムまたは装置は、統合システムもしくは自己完結型システムで、および/または自動化されたもしくはプログラム可能な方式で、単離、処理、改変、および製剤化工程のうちの1つまたは複数、例えば全部を実行する。いくつかの局面では、システムまたは装置は、システムまたは装置に接続されたコンピュータおよび/またはコンピュータプログラムを含み、これにより、使用者が処理、単離、改変、および製剤化工程をプログラムする、制御する、そのアウトカムを評価する、および/またはその様々な局面を調節することが可能になる。

【0503】

いくつかの局面では、分離および/または他の工程は、例えば閉鎖系および無菌系における臨床規模レベルでの細胞の自動分離のために、CliniMACS（登録商標）システム（Miltenyi Biotec）を用いて行われる。構成要素には、統合マイクロコンピュータ、磁気分離ユニット、蠕動ポンプ、および様々なピンチバルブが含まれ得る。統合コンピュータは、いくつかの局面では、機器のすべての構成要素を制御し、標準化された順序で反復手順を実行するようにシステムに指示する。いくつかの局面における磁気分離ユニットは、可動永久磁石と選択カラム用のホルダとを含む。蠕動ポンプはチューブセット全体の流速を制御し、ピンチバルブと共に、システムを通る緩衝液の制御された流れおよび細胞の継続的な懸濁を確実にする。

30

【0504】

いくつかの局面におけるCliniMACS（登録商標）システムは、滅菌非発熱性溶液中で供給される抗体結合磁化可能粒子を使用する。いくつかの態様において、細胞を磁性粒子で標識した後、細胞を洗浄して過剰の粒子を除去する。続いて細胞調製バッグをチューブセットに接続し、次に緩衝剤を含むバッグおよび細胞収集バッグにチューブセットを接続する。チューブセットは、プレカラムと分離カラムを含むあらかじめ組み立てられた滅菌チューブからなり、使い捨て専用である。分離プログラムの開始後、システムは自動的に細胞試料を分離カラムに適用する。標識細胞はカラム内に保持され、非標識細胞は一連の洗浄工程によって除去される。いくつかの態様において、本明細書に記載の方法で使用するための細胞集団は標識されておらず、カラム内に保持されない。いくつかの態様において、本明細書に記載の方法で使用するための細胞集団は標識されており、カラム内に保持される。いくつかの態様において、本明細書に記載の方法で使用するための細胞集団は、磁場の除去後にカラムから溶出され、細胞収集バッグ内に収集される。

40

50

【0505】

特定の態様において、分離および/または他の工程は、CliniMACS Prodigy（登録商標）システム（Miltenyi Biotec）を使用して行われる。いくつかの局面におけるCliniMACS Prodigy（登録商標）システムは、遠心分離による細胞の自動洗浄および分画を可能にする細胞処理ユニットを備える。CliniMACS Prodigy（登録商標）システムはまた、ソース細胞産物の巨視的層を識別することによって最適な細胞分画エンドポイントを決定する搭載カメラおよび画像認識ソフトウェアを含み得る。例えば、末梢血は自動的に赤血球、白血球および血漿層に分離され得る。CliniMACS Prodigy（登録商標）システムはまた、例えば細胞分化および拡大増殖、抗原負荷、ならびに長期細胞培養などの細胞培養プロトコルを達成する統合細胞培養チャンバを含み得る。入力ポートは培地の無菌除去および補充を可能にし、細胞は統合顕微鏡を使用してモニタリングすることができる。（例えば、Klebanoff et al., (2012) J Immunother. 35 (9): 651-660、Terakura et al., (2012) Blood. 117: 72-82およびWang et al., (2012) J Immunother. 35 (9): 689-701参照。）

10

【0506】

いくつかの態様において、本明細書に記載の細胞集団はフローサイトメトリーによって収集および濃縮（または除去）され、フローサイトメトリーでは、複数の細胞表面マーカーについて染色された細胞が流体流中で運ばれる。いくつかの態様において、本明細書に記載の細胞集団は、分取規模（FACS）選別によって収集および濃縮（または除去）される。特定の態様において、本明細書に記載の細胞集団は、FACSに基づく検出システムと組み合わせた微小電気機械システム（MEMS）チップの使用によって収集および濃縮（または除去）される（例えば国際公開公報第2010/033140号、Cho et al., (2010) Lab Chip 10, 1567-1573；およびGodin et al., (2008) J Biophoton. 1 (5): 355-376参照）。どちらの場合も、細胞を複数のマーカーで標識して、明確に定義されたT細胞サブセットを高純度で単離することができる。

20

【0507】

いくつかの態様において、抗体または結合パートナーは、ポジティブ選択および/またはネガティブ選択のための分離を容易にするために、1つまたは複数の検出可能なマーカーで標識される。例えば、分離は蛍光標識抗体への結合に基づき得る。いくつかの例では、1つまたは複数の細胞表面マーカーに特異的な抗体または他の結合パートナーの結合に基づく細胞の分離は、例えばフローサイトメトリー検出システムと組み合わせた、分取規模（FACS）および/または微小電気機械システム（MEMS）チップを含む蛍光活性化細胞選別（FACS）などによって流体流中で行われる。そのような方法は、同時に複数のマーカーに基づくポジティブ選択およびネガティブ選択を可能にする。

30

【0508】

いくつかの態様において、調製方法は、単離、インキュベーション、および/または改変の前または後のいずれかに、細胞を凍結する、例えば凍結保存する工程を含む。いくつかの態様において、凍結およびその後の解凍工程は、細胞集団中の顆粒球および、ある程度まで、単球を除去する。いくつかの態様において、細胞は、例えば血漿および血小板を除去するための洗浄工程の後に、凍結溶液中に懸濁される。いくつかの局面では様々な公知の凍結溶液およびパラメータのいずれを使用してもよい。一例は、20% DMSOおよび8% ヒト血清アルブミン（HSA）を含有するPBS、または他の適切な細胞凍結培地を使用することを含む。次にこれを培地で1:1に希釈して、DMSOおよびHSAの最終濃度がそれぞれ10%および4%になるようにする。次いで細胞を毎分1℃の速度で-80℃に凍結し、液体窒素貯蔵タンクの気相中で保存する。

40

【0509】

いくつかの態様において、提供される方法は、培養作業工程、インキュベーション工程、培養工程および/または遺伝子改変工程を含む。例えば、いくつかの態様において、除去を受けた細胞集団および培養開始組成物をインキュベートおよび/または改変するための方法が提供される。

50

【0510】

したがって、いくつかの態様において、細胞集団は培養開始組成物中でインキュベートされる。インキュベーションおよび/または改変は、培養槽、例えばユニット、チャンバ、ウェル、カラム、チューブ、チュービングセット、バルブ、バイアル、培養皿、バッグまたは細胞の培養もしくは培養作業を行うための他の容器内で行われ得る。

【0511】

いくつかの態様において、細胞は、遺伝子改変の前または遺伝子改変との関連においてインキュベートおよび/または培養される。インキュベーション工程は、培養、培養作業、刺激、活性化および/または増殖を含み得る。いくつかの態様において、組成物または細胞は刺激条件または刺激剤の存在下でインキュベートされる。かかる条件としては、集団内の細胞の増殖、拡大増殖、活性化および/または生存が誘導されるように設計されるもの、抗原曝露が模倣されるように設計されるもの、および/または細胞が遺伝子改変のため、例えば組換え抗原受容体の導入のために初回刺激を受けるように設計されるものが挙げられる。

10

【0512】

条件は、特定の培地、温度、酸素含量、二酸化炭素含量、時間、薬剤、例えば栄養素、アミノ酸、抗生物質、イオン、および/または刺激因子、例えばサイトカイン、ケモカイン、抗原、結合パートナー、融合タンパク質、組換え可溶性受容体、および細胞を活性化させるように設計された他の任意の薬剤の1つまたは複数を含み得る。

【0513】

いくつかの態様において、刺激条件または刺激物質は、TCR複合体の細胞内シグナル伝達ドメインを刺激するまたは活性化させることができる1つまたは複数の薬剤、例えばリガンドを含む。いくつかの局面では、薬剤は、T細胞におけるTCR/CD3細胞内シグナル伝達カスケードを作動または開始させる。そのような薬剤は、TCRの構成要素および/または共刺激受容体に特異的な抗体（例えば、抗CD3、抗CD28）などの抗体を含むことができ、それらは例えば、ビーズなどの固体支持体、および/または1つもしくは複数のサイトカインに結合していてもよい。任意で、拡大増殖方法は、抗CD3抗体および/または抗CD28抗体を培地に（例えば少なくとも約0.5ng/mLの濃度で）添加する工程をさらに含み得る。いくつかの態様において、刺激剤には、IL-2および/またはIL-15（例えば、濃度が少なくとも約10単位/mLのIL-2）が含まれる。

20

30

【0514】

いくつかの局面では、インキュベーションは、Riddellらの米国特許第6,040,177号、Klebanoff et al., (2012) J Immunother. 35 (9): 651-660、Terakura et al., (2012) Blood. 117:72-82および/またはWang et al., (2012) J Immunother. 35 (9): 689-701に記載されているような技術に従って行われる。

【0515】

いくつかの態様において、T細胞は、培養開始組成物に、非分裂末梢血単核細胞（PBMC）などのフィーダー細胞を添加すること（例えば、得られる細胞集団が、拡大増殖させるべき初期集団中の各Tリンパ球につき少なくとも約5、10、20、または40またはそれ以上のPBMCフィーダー細胞を含むように）、および培養物をインキュベーションすること（例えばT細胞の数を増やすのに十分な時間）によって拡大培養される。いくつかの局面では、非分裂フィーダー細胞は、 γ 線照射PBMCフィーダー細胞を含み得る。いくつかの態様において、PBMCは、細胞分裂を防ぐために約3000~3600ラドの範囲の γ 線を照射される。いくつかの局面では、フィーダー細胞は、T細胞集団の添加の前に培地に添加される。

40

【0516】

いくつかの態様において、刺激条件は、ヒトTリンパ球の増殖に適した温度、例えば少なくとも約25℃、一般に少なくとも約30℃、一般に37℃または約37℃を含む。任意で、インキュベーションは、非分裂EBV形質転換リンパ芽球様細胞（LCL）をフィーダー細胞として添加することをさらに含み得る。LCLは、約6,000~10,000ラドの範囲の γ 線で照

50

射することができる。いくつかの局面におけるLCLフィーダー細胞は任意の適切な量で、例えばLCLフィーダー細胞と最初のTリンパ球の比が少なくとも約10:1で提供される。

【0517】

諸態様において、抗原特異的T細胞、例えば抗原特異的CD4+および/またはCD8+T細胞は、ナイーブTリンパ球または抗原特異的Tリンパ球を抗原で刺激することにより得られる。例えば、サイトメガロウイルス抗原に対する抗原特異的T細胞株または抗原特異的T細胞クローンは、感染した対象からT細胞を単離し、該細胞をインビトロにて同じ抗原で刺激することにより作製することができる。

【0518】

C. マルチターゲットイングのための改変細胞、ベクター、および組成物

また、複数種の抗原に結合し得る、および/または複数種の抗原を標的とし得る細胞、例えば改変細胞が提供される。いくつかの態様において、複数種の抗原を標的とする戦略によって選択性および特異性の改善がなされる。かかる戦略は、概して、典型的には相違する、遺伝子改変された抗原受容体上に存在し、相違する抗原に特異的に結合する複数の抗原結合ドメインを伴う。いくつかの態様において、細胞は、1つより多くの抗原に結合する能力を有するように改変される。例えば、いくつかの態様において、細胞は、多重特異性結合分子を発現するように改変される。いくつかの態様において、細胞は、各々が1つの抗原または複数種の抗原を標的とし得る複数の結合分子（例えば組換え受容体）、例えば、ROR1を標的とする1つの受容体（例えば、本明細書に記載されるいずれかのもの）と、別の抗原（例えば腫瘍抗原）を標的とする別の受容体とを発現する。いくつかの局面において、細胞または組織もしくはその細胞での標的対象の疾患部もしくは病態部内または該疾患部もしくは病態部上に各々発現される異なる抗原に特異的に結合する複数の遺伝子改変された抗原受容体が、該細胞内に導入される。かかる特徴により、いくつかの局面において、オフターゲット効果に対処する、またはオフターゲット効果の可能性を低減する、または有効性を増強することができる。例えば、疾患または病態において発現される単一の抗原が非罹病細胞もしくは正常細胞上または非罹病細胞もしくは正常細胞においても発現される場合、かかるマルチターゲットイングアプローチでは、細胞を活性化するため、または特定のエフェクター機能を誘導するために複数種の抗原受容体による結合を必要とすることによって所望の細胞型に対する選択性もたらされ得る。いくつかの態様において、複数の細胞は、各々が1つの抗原または複数種の抗原を標的とし得る1つまたは複数の異なる結合分子、例えば組換え受容体を発現するように改変され得る。

【0519】

また、本明細書に記載の任意の結合分子を含む多重特異性細胞、例えば、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む細胞表面タンパク質と、異なる抗原またはROR1上の異なるエピトープに結合する追加の細胞表面タンパク質（例えば追加のキメラ受容体）とを含む細胞が提供される。いくつかの態様において、組換え受容体を発現する細胞の組成物であって、該結合分子、多重特異性結合分子、および/または組換え受容体のうちの1つまたは複数がROR1に結合しかつ/またはROR1を標的とする、組成物が提供される。また、1種類または複数種の抗原を標的とし得る1つまたは複数の異なる結合分子、例えば組換え受容体を発現する複数の細胞を含む細胞の組成物が提供される。いくつかの態様において、多重特異性結合分子および/または組換え受容体は、ROR1上の1つまたは複数の異なるエピトープを標的とする。

【0520】

いくつかの態様において、各細胞型が1つまたは複数の結合分子、例えば組換え受容体を発現する細胞の組成物が提供される。いくつかの態様において、細胞は、1つまたは複数の抗体および/またはその一部分、例えばその抗原結合断片を含む1つまたは複数のアミノ酸配列をコードする1つまたは複数の核酸を含む1つまたは複数のベクターを含む（例えば、該ベクターを用いて形質転換されている）。いくつかの態様において、1つまたは複数のかかる細胞が提供される。いくつかの態様において、1つまたは複数のかかる細胞を含む組成物が提供される。いくつかの態様において、該1つまたは複数の細胞は異なる抗

10

20

30

40

50

体または同じ抗体を発現し得る。いくつかの態様において、該細胞の各々は、1つまたは複数の抗体、例えば1つより多くの抗体を発現する。いくつかの態様において、該細胞の各々は、多重特異性結合分子、例えば多重特異性受容体（例えばCAR）を発現する。

【0521】

いくつかの態様において、該細胞は、ROR1と特定の疾患または病態と関連している第2の抗原または追加の抗原とを標的とするマルチターゲティングストラテジーを含む。いくつかの態様において、第2の抗原または追加の抗原は、多重特異性結合分子および/または複数種の結合分子および/または各々が1つもしくは複数の組換え受容体を発現するように改変された複数の細胞、例えば1つもしくは複数の細胞によって標的とされる。いくつかの態様において、第2の抗原または追加の抗原を標的とする組換え受容体は、ROR1結合分子と同じ細胞上または異なる細胞上に発現される。

10

【0522】

いくつかの態様において、マルチターゲティングストラテジーのための第2の抗原または追加の抗原としては、抗原のうちの少なくとも1つがユニバーサル腫瘍抗原またはそのファミリーメンバーであるものが挙げられる。いくつかの態様において、第2の抗原または追加の抗原は腫瘍上に発現される抗原である。いくつかの態様において、本明細書において提供されるROR1結合分子は、第2の抗原または追加の抗原とのものと同じ型の腫瘍上の抗原を標的とする。いくつかの態様において、第2の抗原または追加の抗原はまた、ユニバーサル腫瘍抗原であってもよく、腫瘍型に特異的な腫瘍抗原であってもよい。いくつかの態様において、細胞は、治療対象の疾患または病態において発現される第2の抗原または追加の抗原を認識して刺激シグナルまたは活性化シグナル誘導する追加の遺伝子改変抗原受容体をさらに含む。

20

【0523】

例示的な抗原としては、CD4、CD5、CD8、CD14、CD15、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD33、CD37、CD38、CD40、CD40L、CD46、CD52、CD54、CD74、CD80、CD126、CD138、B7、MUC-1、Ia、HM1.24、HLA-DR、テネシシン、血管新生因子、VEGF、PIGF、ED-Bフィブロネクチン、癌遺伝子、癌遺伝子産物、CD66a-d、壊死抗原、Ii、IL-2、T101、TAC、IL-6、TRAIL-R1 (DR4)、TRAIL-R2 (DR5)、B細胞成熟抗原 (BCMA)、Her2、L1-CAM、メソテリン、CEA、B型肝炎表面抗原、抗葉酸受容体、CD24、CD30、CD44、EGFR、EGP-2、EGP-4、EPHa2、ErbB2、ErbB3、ErbB4、erbB二量体、EGFR vIII、FBP、FCRL5、FCRH5、胎児型アセチルコリン受容体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13R- α 2、kdr、 κ 軽鎖、ルイスY、L1-細胞接着分子 (L1-CAM)、メラノーマ関連抗原 (MAGE) -A1、MAGE-A3、MAGE-A6、メラノーマ優先発現抗原 (PRAME)、サバイビン、EGP2、EGP40、TAG72、B7-H6、IL-13受容体 α 2 (IL-13Ra2)、CA9、CD171、G250/CAIX、HLA-A1 MAGE A1、HLA-A2 NY-ESO-1、PSCA、葉酸受容体-a、CD44v6、CD44v7/8、avb6インテグリン、8H9、NCAM、VEGF受容体、5T4、胎児型AChR、NKG2Dリガンド、二重抗原、ユニバーサルタグと関連している抗原、がん-精巣抗原、MUC1、MUC16、NY-ESO-1、MART-1、gp100、腫瘍胎児性抗原、VEGF-R2、癌胎児性抗原 (CEA)、前立腺特異抗原、PSMA、Her2/neu、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、エフリンB2、CD123、c-Met、GD-2、O-アセチル化GD2 (OGD2)、CE7、ウィルムス腫瘍1 (WT-1)、サイクリン、サイクリンA2、CCL-1、hTERT、MDM2、CYP1B、WT1、リビン、AFP、p53、サイクリン (D1)、CS-1、BCMA、BAFF-R、TACI、CD56、TIM-3、CD123、L1-細胞接着分子、MAGE-A1、MAGE A3、サイクリン、例えばサイクリンA1 (CCNA1) および/または病原体特異的抗原、ビオチン化分子、HIV、HCV、HBVおよび/または他の病原体によって発現される分子、および/またはいくつかの局面において、ネオエピトープもしくはそのネオ抗原が挙げられる。いくつかの態様において、抗原はユニバーサルタグと関連しているか、あるいはユニバーサルタグである。

30

40

【0524】

いくつかの態様において、該複数の抗原、例えば第1の抗原、例えばROR1および第2の

50

抗原または追加の抗原は、標的とする対象の細胞上、組織上、または疾患もしくは病態において、例えばがん細胞上に発現される。いくつかの局面において、該細胞、組織、疾患または病態は、がんまたは腫瘍であるか、あるいはがんまたは腫瘍に関連している。該複数の抗原のうちの1つまたは複数の抗原はまた、一般的に、細胞療法でのターゲティングが所望されない細胞上、例えば正常細胞あるいは非罹病細胞もしくは非罹病組織および/または改変細胞それ自体にも発現される。かかる態様において、細胞応答を得るために複数種の受容体のライゲーションを必要とすることにより、特異性および/または有効性が得られる。

【0525】

いくつかの態様において、該細胞および方法は、マルチターゲティングストラテジー、例えば各々が異なる抗原を認識し、典型的には各々が異なる細胞内シグナル伝達構成要素を含む2つまたはそれ以上の遺伝子改変受容体の細胞上における発現を含む。かかるマルチターゲティングストラテジーは、例えばWO2014055668（例えば、オフターゲット、例えば正常細胞に個々に存在するが治療対象の疾患または病態の細胞のみに一緒に存在する2つの異なる抗原を標的とする活性化性CARと共刺激性CARの組合せが記載されている）およびFedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5 (215) (December, 2013)（活性化性CARおよび抑制性CARを発現する細胞、例えば活性化性CARは、正常細胞または非罹病細胞と治療対象の疾患または病態の細胞のどちらにも発現されるある抗原に結合し、抑制性CARは、正常細胞または治療が所望されない細胞のみに発現される別の抗原に結合するものが記載されている）に記載されている。

【0526】

いくつかの態様において、各々が1つまたは複数の組換え受容体を発現するように改変された複数の細胞が提供される。例えば、いくつかの態様において、ある細胞は、ROR1に結合しかつ/またはそれを標的とする結合分子を発現するように改変され、別の細胞は、追加の抗原もしくは第2の抗原に結合しかつ/またはそれを標的とする結合分子を発現するように改変される。いくつかの態様において、該細胞は各々、多重特異性結合分子、例えば多重特異性組換え受容体を発現し得、ここで標的抗原のうちの1つまたは複数のROR1である。かかる態様のいくつかにおいて、該複数の細胞は一緒に、または別々に投与され得る。いくつかの態様において、一部の該複数の細胞は他の細胞と同時に、または並行して投与される、例えば該複数状態の別の改変細胞と同じ日に、および/または任意の順序で逐次もしくは間欠的に投与される。例えば、いくつかの態様において、ROR1結合分子（例えばCAR）を発現する改変細胞は、異なる標的抗原またはROR1上の異なるエピトープに結合する結合分子を発現している別の改変細胞と同時に、または任意の順序で逐次投与される。いくつかの態様において、該複数の細胞は同じ組成物中または異なる組成物中に存在し得る。例示的な細胞組成物としては、以下のセクションIIIに記載の組成物が挙げられる。

【0527】

III. 薬学的組成物

また、ROR1結合分子、イムノコンジュゲート、組換え受容体および改変細胞を含む組成物、例えば薬学的組成物および薬学的製剤が提供される。また、本明細書において提供されるROR1結合分子、例えば組換え受容体（例えば、CAR）を発現する改変細胞を含む組成物、例えば薬学的組成物および薬学的製剤が提供される。

【0528】

ROR1結合分子（例えば、抗体）、イムノコンジュゲート、組換え受容体（例えば、キメラ抗原受容体）、前記分子（例えば、抗体もしくは組換え受容体）を発現する改変細胞、前記分子（例えば、組換え受容体）を発現している複数の改変細胞および/または併用治療もしくは併用療法のための追加の薬剤を含む薬学的製剤が提供される。該薬学的組成物および薬学的製剤は概して、1種類または複数種の任意の薬学的に許容される担体または賦形剤を含む。いくつかの態様において、該組成物は少なくとも1種類の追加の治療用薬剤を含む。

【0529】

10

20

30

40

50

用語「薬学的製剤」は、調製物であって、該調製物に含まれる有効成分の生物学的活性が効果的であることを可能にするような形態であり、かつ、製剤が投与されるであろう対象に対して許容できないほどに毒性であるさらなる成分をなんら含まない調製物を示す。

【0530】

「薬学的に許容される担体」は、対象にとって非毒性である、有効成分以外の薬学的製剤における成分を示す。薬学的に許容される担体としては、限定するわけではないが、緩衝液、賦形剤、安定剤または防腐剤が挙げられる。

【0531】

いくつかの局面において、担体の選択は、一部には特定の細胞、結合分子および/または抗体によって、および/または投与方法によって決定される。したがって、種々の適切な製剤が存在する。例えば、薬学的組成物は防腐剤を含み得る。適切な防腐剤には、例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウム、および塩化ベンザルコニウムが含まれ得る。いくつかの局面では、2つまたはそれ以上の防腐剤の混合物が使用される。防腐剤またはその混合物は、典型的には全組成物の約0.0001重量%～約2重量%の量で存在する。担体は、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に記載されている。薬学的に許容される担体は一般に、用いられる投薬量および濃度でレシピエントに非毒性であり、以下のものが含まれるが、これらに限定されるわけではない:リン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸などの緩衝剤;アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤;防腐剤(塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルもしくはベンジルアルコール、メチルもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノールおよびm-クレゾールなど);低分子量(約10残基未満)ポリペプチド;血清アルブミン、ゼラチンもしくは免疫グロブリンなどのタンパク質;ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー;グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンもしくはリジンなどのアミノ酸;単糖類、二糖類、およびグルコース、マンノースもしくはデキストリンを含む他の炭水化物;EDTAなどのキレート剤;スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトールなどの糖類;ナトリウムなどの塩形成対イオン;金属錯体(例えばZn-タンパク質錯体);ならびに/またはポリエチレングリコール(PEG)などの非イオン界面活性剤。

【0532】

いくつかの局面では、緩衝剤が組成物に含まれる。適切な緩衝剤には、例えばクエン酸、クエン酸ナトリウム、リン酸、リン酸カリウム、ならびに他の様々な酸および塩が含まれる。いくつかの局面では、2つまたはそれ以上の緩衝剤の混合物が使用される。緩衝剤またはその混合物は、典型的には全組成物の約0.001重量%～約4重量%の量で存在する。投与可能な薬学的組成物を調製するための方法は公知である。例示的な方法は、例えばRemington:The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005)においてより詳細に記載されている。

【0533】

本明細書に記載される抗体の製剤は凍結乾燥製剤および水性液剤を含み得る。

【0534】

製剤または組成物に、該結合分子または細胞で治療される特定の適応症、疾患または病態に有用な1種類より多くの有効成分、好ましくは該結合分子または細胞に対して補完的な活性を有するものもまた含めてもよく、この場合、それぞれの活性は互いに悪影響を及ぼさない。かかる有効成分は、意図される目的に有効な量で組み合わせて適切に存在する。したがって、いくつかの態様において、薬学的組成物は、他の薬学的に活性な剤または薬物、例えば化学療法剤、例えばアスパラギナーゼ、ブスルファン、カルボプラチン、シスプラチン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、メトトレキサート、パクリタキセル、リツキシマブ、ビンブラスチン、ビンクリスチンなどをさらに含む。いくつかの態様において、細胞または抗体は、塩、例えば

薬学的に許容される塩の形態で投与される。適切な薬学的に許容される酸付加塩としては、鉱酸、例えば塩酸、臭化水素酸、リン酸、メタリン酸、硝酸および硫酸ならびに有機酸、例えば酒石酸、酢酸、クエン酸、リンゴ酸、乳酸、フマル酸、安息香酸、グリコール酸、グルコン酸、コハク酸およびアリールスルホン酸、例えばp-トルエンスルホン酸から誘導されるものが挙げられる。

【0535】

有効成分を、マイクロカプセル内、コロイド系薬物送達システム（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子およびナノカプセル）内またはマクロエマルジョン中に封入してもよい。特定の態様において、薬学的組成物は、包接錯体、例えばシクロデキストリン包接錯体として、またはリポソームとして製剤化される。リポソームは、宿主細胞（例えば、T細胞またはNK細胞）を特定の組織に標的指向させるのに有用であり得る。多くの方法、例えばSzoka et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9:467 (1980) ならびに米国特許4,235,871、4,501,728、4,837,028および5,019,369に記載のものなどが、リポソームを調製するのに利用可能である。

10

【0536】

いくつかの局面における薬学的組成物には、組成物の送達が治療対象の部位の感作前に行われるような、および治療対象の部位の感作が引き起こされるのに十分な時間で行われるような、時限的放出、遅延放出および徐放送達システムが使用され得る。多くの型の放出送達システムが利用可能であり、公知である。かかる系では組成物の反復投与が回避され得、それにより対象および医師に対する簡便性が高まり得る。

20

【0537】

いくつかの態様における薬学的組成物は、疾患または病態を治療または予防するのに有効な量、例えば治療上有効な量または予防上有効な量の結合分子および/または細胞を含む。いくつかの態様における治療有効性または予防有効性は、処置される対象の定期的な評価によってモニタリングされる。数日間またはそれより長くにわたる反復投与では、病態に応じて、処置は、疾患症状の所望の抑制が起こるまで繰り返される。しかしながら、他の投薬量レジメンが有用な場合もあり得、他の投薬量レジメンを決定してもよい。所望の投薬量は、組成物の単回ボーラス投与によって、組成物の反復ボーラス投与によって、または組成物の連続注入投与によって送達され得る。

【0538】

特定の態様において、結合分子を含有する遺伝子改変細胞に関しては、100万もしくは約100万個～1000億もしくは約1000億個、例えば100万もしくは約100万個～500億もしくは約500億個（例えば、500万もしくは約500万個、2500万もしくは約2500万個、5億もしくは約5億個、10億もしくは約10億個、50億もしくは約50億個、200億もしくは約200億個、300億もしくは約300億個、400億もしくは約400億個、または前述の値のいずれか2つによって画定される範囲）、例えば、1000万もしくは約1000万個～1000億もしくは約1000億個（例えば、2000万もしくは約2000万個、3000万もしくは約3000万個、4000万もしくは約4000万個、6000万もしくは約6000万個、7000万もしくは約7000万個、8000万もしくは約8000万個、9000万もしくは約9000万個、100億もしくは約100億個、250億もしくは約250億個、500億もしくは約500億個、750億もしくは約750億個、900億もしくは約900億個、もしくは前述の値のいずれか2つによって画定される範囲）、およびいくつかの場合では、1億もしくは約1億個～500億もしくは約500億個（例えば、1億2000万もしくは約1億2000万個、2億5000万もしくは約2億5000万個、3億5000万もしくは約3億5000万個、4億5000万もしくは約4億5000万個、6億5000万もしくは約6億5000万個、8億もしくは約8億個、9億もしくは約9億個、30億もしくは約30億個、300億もしくは約300億個、450億もしくは約450億個）の範囲で、またはこれらの範囲間に含まれる任意の値および/または対象の体重1キログラムあたりかかる数の細胞が、対象に投与される。

30

40

【0539】

標準的な投与手法、製剤および/またはデバイスを用いて投与され得る。製剤ならびに組

50

成物の保存および投与のためのデバイス、例えばシリンジおよびバイアルが提供される。細胞投与は自己であっても異種であってもよい。例えば、免疫細胞、免疫応答性細胞、または前駆細胞は、ある対象から得て、同じ対象または異なる適合性対象に投与され得る。末梢血由来の免疫応答性細胞またはその子孫（例えばインビボ、エクスビボまたはインビトロ由来）は、局所注射、例えばカテーテル投与、全身注射、局所注射、静脈内注射、または非経口投与によって投与され得る。治療用組成物（例えば、遺伝子改変された免疫細胞（例えばT細胞）を含有する薬学的組成物）を投与する場合、これは概して、注射可能な単位投薬量形態（液剤、懸濁液、エマルジョン）で製剤化される。

【0540】

製剤には、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、皮下投与、肺投与、経皮投与、筋肉内投与、鼻腔内投与、口腔投与、舌下投与または坐剤投与用のものが含まれる。いくつかの態様において、細胞集団は非経口投与される。本明細書で使用される「非経口」という用語は、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、直腸内投与、腔内投与、頭蓋内投与、胸郭内投与および腹腔内投与を含む。いくつかの態様において、細胞集団は、静脈内、腹腔内または皮下注射による末梢全身送達を用いて対象に投与される。

【0541】

いくつかの態様における組成物は、いくつかの局面では選択されたpHに緩衝され得る、滅菌液体製剤、例えば等張水溶液、懸濁液、エマルジョン、分散液、または粘性組成物として提供される。液体製剤は通常、ゲル、他の粘性組成物および固体組成物よりも調製が容易である。さらに、液体組成物は、特に注射によって投与するのにいくぶんより便利である。他方で、粘性組成物は、特定の組織とのより長い接触期間を提供する適切な粘度範囲内に製剤化することができる。液体または粘性組成物は担体を含むことができ、担体は、例えば水、食塩水、リン酸緩衝食塩水、ポリオール（例えばグリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール）およびそれらの適切な混合物を含む溶媒または分散媒であり得る。

【0542】

滅菌注射溶液は、適切な担体、希釈剤、または賦形剤、例えば滅菌水、生理食塩水、グルコース、デキストロースなどとの混合状態などの溶媒中に結合分子を組み込むことによって調製することができる。組成物を凍結乾燥させることもできる。組成物には、所望される投与経路および調製物に応じて、補助物質、例えば湿潤剤、分散剤または乳化剤（例えばメチルセルロース）、pH緩衝剤、ゲル化または粘度向上添加剤、防腐剤、香味剤、着色剤などが含まれ得る。いくつかの局面において、標準的な教本を参考にして適切な調製物が調製され得る。

【0543】

組成物の安定性および滅菌性を高める種々の添加剤、例えば抗菌防腐剤、抗酸化剤、キレート剤および緩衝剤を添加することができる。微生物の作用の防止は、種々の抗菌剤および抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などによって確実にすることができる。注射用薬学的形態の持続的吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの使用によってもたらされ得る。

【0544】

徐放調製物を調製してもよい。適切な例の徐放調製物は、抗体を含む固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスを含み、該マトリックスは成形物品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形態である。

【0545】

インビボ投与に使用される製剤は一般に滅菌されている。滅菌性は、例えば滅菌濾過膜に通して濾過することによって容易に達成され得る。

【0546】

また、併用療法のための薬学的組成物が提供される。本明細書に記載の併用療法のための追加の薬剤のいずれか、例えばセクションIV.Bに記載の薬剤が1つまたは複数の薬学的組成物として調製され、本明細書に記載のROR1結合分子（例えば、抗体）、イムノコン

10

20

30

40

50

ジュゲート、組換え受容体（例えば、キメラ抗原受容体）、および/または前記分子（例えば、組換え受容体）を発現する改変細胞と共に投与され得る。併用療法薬は1つまたは複数の薬学的組成物で投与され得、例えばこの場合、該結合分子、組換え受容体および/または細胞は同じ薬学的組成物中に追加の薬剤として存在するか、または別個の薬学的組成物中に存在する。例えば、いくつかの態様において、追加の薬剤は追加の改変細胞、例えば、異なる抗原またはROR1上の異なるエピトープを標的とする異なる組換え受容体を発現するように改変された細胞であり、同じ組成物または別個の組成物で投与される。いくつかの態様において、各薬学的組成物は、特定の結合分子、組換え受容体、細胞、例えば改変細胞および/または追加の薬剤ならびに特定の投薬量レジメンおよび/または送達方法に応じて適切な製剤に製剤化される。

【0547】

IV. 方法および使用

また、ROR1結合分子、イムノコンジュゲート、組換え受容体、改変細胞、ならびにその薬学的組成物および薬学的製剤の、例えばROR1が発現される疾患、状態、および障害の治療における、使用方法（例えば治療方法）ならびに使用、ならびに/または検出方法、診断方法、および予後判定方法も提供される。また、併用療法および/または治療の方法も提供される。

【0548】

A. 治療方法および予防方法ならびに使用

また、ROR1結合分子、例えば抗ROR1抗体、例えば抗体断片およびそれを含むタンパク質、例えば組換え受容体（例えば、CAR）、組換え受容体（例えば、CAR）を発現する改変細胞、該受容体が発現している複数の改変細胞および/またはそれを含む組成物の投与方法ならびに使用、例えば治療的使用および予防的使用が提供される。かかる方法および使用は、例えば該分子（例えば、ROR1結合分子、組換え受容体）、細胞（例えば、改変細胞）またはそれを含む組成物を、ROR1に関連する疾患、病態または障害、例えばROR1の発現と関連している疾患、病態もしくは障害および/または細胞もしくは組織がROR1を発現、例えば特異的に発現する疾患、病態もしくは障害を有する対象に投与することを伴う治療方法および治療的使用を含む。いくつかの態様において、該分子、細胞および/または組成物は、該疾患または障害の治療がもたらされるのに有効な量で投与される。かかる方法および治療における、ならびにかかる治療方法を行なうための医薬の調製における該結合分子（例えば、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片）、組換え受容体（例えば、CAR）および細胞（例えば、改変細胞）の使用が本明細書において提供される。使用としては、かかる方法および治療における、ならびにかかる治療方法を行なうための医薬の調製における、該結合分子、CAR、抗体、および細胞の使用が挙げられる。いくつかの態様において、該方法は、該結合分子もしくは細胞またはそれを含む組成物を、該疾患もしくは病態を有するか、有したことがあるか、または有することが疑われる対象に投与することにより行なわれる。いくつかの態様において、該方法はそれにより対象の疾患または病態または障害を治療する。また、ROR1に関連する疾患または障害（例えばROR1発現がん）の治療のための、本明細書において提供される任意の組成物（例えば薬学的組成物）の使用が本明細書において提供される。

【0549】

本明細書において使用する場合、「治療」（およびその文法的語尾変化形、例えば「治療する」または「治療すること」）は、疾患もしくは病態もしくは障害または症状、有害効果もしくはアウトカムまたはこれらに関連する表現型の完全寛解もしくは一部寛解または低減を示す。望ましい治療効果としては、限定するわけではないが、疾患の発生もしくは再発の予防、症状の軽減、疾患の任意の直接的もしくは間接的な病理学的帰結の減衰、転移の予防、疾患進行の減速、疾患状態の寛解または緩解、および寛解または予後の改善が挙げられる。この用語は、疾患の完全な治癒あるいは任意の症状またはすべての症状もしくはアウトカムに対する効果の完全な消去を示唆するものではない。

【0550】

本明細書において使用する場合、「疾患の発症を遅延させる」とは、疾患（例えば、がん）の発症を延ばす、妨害する、遅滞させる、遅らせる、安定させる、抑制する、および/または延期することを意味する。この遅延は、病歴および/または治療される個体に応じていろいろな長さの時間であり得る。当業者にとって明らかであるように、充分または有意な遅延には、事実上、個体が疾患を発症しないという点で予防が包含され得る。例えば、末期がん、例えば転移の発生が遅延され得る。

【0551】

「予防する」とは、本明細書において使用する場合、疾患に対して素因があるかもしれないが、まだ該疾患と診断されていない対象において、疾患の発症または再発に関して予防をもたらすことを包含している。いくつかの態様において、提供される分子および組成物は、疾患の発症を遅延させるため、または疾患の進行を遅滞させるために使用される。

10

【0552】

本明細書において使用する場合、機能または活性を「抑制する」とは、関心対象の条件もしくはパラメータ以外、その他は同じ条件と比べた場合、または代替的に、別の条件と比べて該機能または活性を低下させることである。例えば、腫瘍の成長を抑制する抗体または組成物または細胞は、腫瘍の成長速度を、該抗体または組成物または細胞の非存在下での腫瘍の成長速度と比べて低下させる。

【0553】

投与の状況における薬剤、例えば薬学的製剤、結合分子、抗体、または細胞、または組成物の「有効な量」は、必要な投薬量/量および期間で、所望の結果、例えば治療結果または予防結果が得られるのに有効な量を示す。

20

【0554】

薬剤、例えば薬学的製剤、抗体、または細胞の「治療上有効な量」は、必要な投薬量および期間で、例えば疾患、病態もしくは障害の治療および/または治療の薬物動態効果もしくは薬力学効果のための所望の治療結果が得られるのに有効な量を示す。治療上有効な量は、対象の疾患状態、年齢、性別および体重ならびに投与される細胞集団などの要素に応じて異なり得る。いくつかの態様において、提供される方法は、分子、細胞、および/または組成物を、有効な量、例えば治療上有効な量で投与することを伴う。

【0555】

「予防上有効な量」は、必要な投薬量および期間で、所望の予防結果が得られるのに有効な量を示す。典型的には、必ずしもそうではないが、予防用量は疾患前または疾患の初期の対象に使用されるため、予防上有効な量は治療上有効な量より少ない。

30

【0556】

本明細書において使用する場合、「対象」は哺乳動物、例えばヒトまたは他の動物であり、典型的にはヒトである。

【0557】

治療対象の疾患の中には、任意のROR1関連疾患もしくは病態、またはROR1を特異的に発現する疾患もしくは病態がある。ある特定の疾患および病態では、ROR1が悪性細胞上およびがんにおいて発現される。いくつかの態様において、該疾患または病態はROR1発現がんである。治療され得るROR1関連疾患または病態としては、非限定的に、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫、マントル細胞リンパ腫（MCL）、非小細胞肺癌（NSCLC）、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、膵癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌が挙げられる。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病態は、CLL、MCL、卵巣癌、肺癌、膵癌、または乳癌から選択される。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病態はCLLである。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病態はMCLである。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病態は卵巣癌である。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病態は肺癌である。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病

40

50

態は膀胱癌である。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病態は乳癌である。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病態は肺癌であり、肺癌は、肺腺癌、腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌、非小細胞肺癌（NSCLC）および非定型カルチノイドの中から選択される。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病態は肺癌であり、肺癌は非小細胞肺癌（NSCLC）である。いくつかの態様において、治療対象の疾患または病態は乳癌であり、乳癌はトリプルネガティブ乳癌である。

【0558】

いくつかの局面において、ある特定の疾患および病態では、ROR1が、悪性細胞上およびがん、例えば、固形腫瘍または血液悪性腫瘍と関連しているがんにおいて発現される。いくつかの態様において、該疾患または病態はROR1発現がんである。いくつかの態様において、治療対象の疾患または障害の中には、がん、例えばROR1発現がんがある。いくつかの態様において、がんは、固形腫瘍または血液悪性腫瘍と関連している。

10

【0559】

いくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する固形腫瘍と関連している。いくつかの態様において、治療対象の疾患または障害は固形腫瘍と関連しているがん、例えば神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌である。いくつかの態様において、肺癌は非小細胞肺癌（NSCLC）である。いくつかの態様において、乳癌はトリプルネガティブ乳癌（TNBC）である。いくつかの局面において、トリプルネガティブ乳癌は、エストロゲン受容体の発現、プロゲステロン受容体の発現およびヒト上皮成長因子受容体2（HER2）の過剰発現について陰性である乳癌を示す。

20

【0560】

いくつかの態様において、がんは、ROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している。いくつかの態様において、ROR1と関連する疾患または障害はB細胞関連障害である。いくつかの態様において、治療対象の疾患または障害は血液悪性腫瘍と関連しているがん、例えばB細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫またはマントル細胞リンパ腫（MCL）である。

【0561】

いくつかの態様において、該方法は、提供される結合分子を発現する改変細胞（例えば、T細胞）を、ROR1関連疾患または病態、例えばROR1発現がんを有する対象に投与することを含む。特定の態様において、改変細胞（例えば、T細胞）は、提供される抗体またはその抗原結合断片（例えば、scFv）を抗原結合ドメインとして含む組換え受容体（例えばCAR）を発現する。いくつかの態様において、改変細胞は処置されている対象に対して自己である。いくつかの態様において、改変細胞は処置されている対象に対して同種異系であり、この場合、該細胞は、疾患をもつ対象から採取され、この改変細胞の投与前に組換え受容体（例えば、CAR）を用いて改変されたものである。

30

【0562】

いくつかの状況において、疾患または障害、例えば慢性リンパ性白血病（CLL）を有する対象から採取した初代T細胞を組換え受容体を発現するように改変すると、他の血液悪性腫瘍を有する対象に由来する初代T細胞と比べて障害された機能を有する改変T細胞がもたされることが報告されている（例えば、Gorgun et al., J Clin Invest. 2005 Jul;115 (7):1797-805 ; Ramsay et al., J Clin Invest. 2008 Jul;118 (7):2427-37 ; Riches et al., Discov Med. 2013 Dec; 16 (90):295-302参照）。いくつかの場合において、本明細書に記載のように、提供される組換え受容体は、CLLを有する対象から採取された初代T細胞で、機能の障害が観察されることなく発現され得る。いくつかの局面において、ROR1を標的とする提供される結合分子、例えば組換え受容体を発現する改変細胞は、疾患または障害、例えばCLLを有する対象に由来する細胞を用いて成功裡に生成され得る。

40

50

【0563】

いくつかの態様において、該方法により、ROR1関連の疾患もしくは障害を有するか、それを有することが疑われるか、またはそれを発病するリスクがある、対象が認定され得る。したがって、高ROR1発現と関連する疾患または障害を有する対象を認定し、該対象を、提供されるROR1結合分子、例えば抗ROR1抗体、例えば抗体断片およびそれを含むタンパク質、例えばキメラ受容体および/または該組換え受容体を発現する改変細胞のいずれかでの処置に選択するための方法が提供される。

【0564】

例えば、対象は、高ROR1発現と関連している疾患または障害、例えばROR1発現がんの存在についてスクリーニングされ得る。いくつかの態様において、該方法は、ROR1関連の疾患、例えば腫瘍の存在についてスクリーニングすること、あるいはROR1関連の疾患、例えば腫瘍の存在を検出することを含む。したがって、いくつかの局面において、試料は、高ROR1発現と関連している疾患または障害を有することが疑われる患者から採取され得、ROR1の発現レベルについてアッセイされ得る。いくつかの局面において、ROR1関連の疾患または障害の試験で陽性である対象が本方法による処置に選択され得、治療上有効な量の本明細書に記載の抗ROR1抗体、ROR1を標的とするCAR、CARを含む細胞またはその薬学的組成物が投与され得る。いくつかの態様において、該方法は、ROR1を発現する組織（例えば腫瘍）の大きさまたは密度を経時的に、例えば該方法による処置の前、該処置中または該処置後においてモニタリングするために使用され得る。

【0565】

いくつかの態様において、対象は、例えば、別のROR1特異的抗体および/またはROR1を標的とするキメラ受容体を発現する細胞および/または他の治療、例えば化学療法、放射線および/または造血幹細胞移植（HSCT）、例えば同種異系HSCTでの処置後、持続性の疾患または再発した疾患を有する。いくつかの態様において、投与により対象は、該対象が別のROR1標的治療に抵抗性になっているにもかかわらず有効に処置される。いくつかの態様において、対象は、再発していないが再発リスクがある、例えば高い再発リスクがあると判定されており、したがって該化合物または組成物が例えば再発の尤度を下げるため、または再発を予防するために予防的に投与される。

【0566】

いくつかの態様において、該処置により、治療に対して対象による免疫応答は誘導されない、および/または疾患もしくは病態の有効な治療を妨げる度合いのかかる応答は誘導されない。いくつかの局面において、免疫原性および/または移植片対宿主応答の度合いは、異なるが同等の処置で観察されるものより少ない。例えば、提供される抗ROR1抗体を含むCARを発現する細胞を用いる養子細胞療法の場合、いくつかの態様における免疫原性の度合いは、提供される抗体、例えばマウスまたはウサギまたはヒト化抗体と類似した、例えば重複するエピトープに結合する、および/またはROR1への結合について競合する異なる抗体を含むCARと比べて低減される。

【0567】

いくつかの態様において、該方法は、提供されるROR1を標的とする受容体（例えば、ROR1を標的とする抗体またはその断片を含むもの）を発現している遺伝子改変細胞を対象に投与する養子細胞療法を含む。かかる投与は、該疾患または障害の細胞が破壊のために標的とされるように、該細胞の活性化（例えば、T細胞の活性化）を、ROR1を標的とする様式で促進させ得る。

【0568】

したがって、提供される方法および使用には、養子細胞療法のための方法および使用が含まれる。いくつかの態様において、当該方法は、細胞または該細胞を含有する組成物を、対象、組織、または細胞（例えば疾患、病態、もしくは障害を有するか、そのリスクがあるか、またはそれを有することが疑われるもの）に投与することを含む。いくつかの態様において、細胞、集団、および組成物は、治療対象の特定の疾患または病態を有する対象に（例えば養子細胞療法、例えば養子T細胞療法によって）投与される。いくつかの態

様において、細胞または組成物は、対象（例えば疾患もしくは病態を有するか、またはそのリスクがある対象）に投与される。いくつかの局面において、方法はそれにより、疾患または病態の1つまたは複数の症状を、例えばROR-1発現がんの腫瘍量を減らすことによって治療する、例えば寛解させる。

【0569】

養子細胞療法用の細胞を投与するための方法は公知であり、提供される方法および組成物との関連において使用され得る。例えば養子T細胞療法の方法は、例えばGruenberg et al.に対する米国特許出願公開第2003/0170238号；Rosenbergに対する米国特許第4,690,915号；Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8 (10): 577-85) に記載されている。例えば、Themeli et al., (2013) Nat Biotechnol. 31 (10): 928-933；Tsukahara et al., (2013) Biochem Biophys Res Commun 438 (1): 84-9；Davila et al., (2013) PLoS ONE 8 (4): e61338を参照のこと。

10

【0570】

いくつかの態様において、細胞療法、例えば養子細胞療法、例えば養子T細胞療法は、細胞を、細胞療法を受ける予定の対象から、またはかかる対象に由来する試料から単離する、および/または別の様式で調製する自家移入によって行われる。したがって、いくつかの局面において、細胞は、治療を必要とする対象、例えば患者に由来し、該細胞は、単離および加工処理後に同じ対象に投与される。

【0571】

いくつかの態様において、細胞療法、例えば養子細胞療法、例えば養子T細胞療法は、細胞を、細胞療法を受ける予定の対象以外の対象または最終的に細胞療法を受ける対象以外の対象、例えば第1の対象から単離する、および/または別の様式で調製する同種異系移入によって行われる。かかる態様において、該細胞は次いで、同じ種の異なる対象、例えば第2の対象に投与される。いくつかの態様において、第1および第2の対象は遺伝学的に同一である。いくつかの態様において、第1および第2の対象は遺伝学的に類似している。いくつかの態様において、第2の対象は、第1の対象と同じHLAクラスまたはスーパータイプを発現する。

20

【0572】

いくつかの態様において、細胞、細胞集団または組成物が投与される対象は、霊長類、例えばヒトである。いくつかの態様において、霊長類はサルまたは類人猿である。対象は男性/雄または女性/雌であり得、任意の適切な年齢、例えば幼児/幼体、年少/幼若、青年期、成人/成体および老齢期の対象であり得る。いくつかの態様において、対象は非霊長類哺乳動物、例えば齧歯類である。いくつかの例において、患者または対象は、疾患、養子細胞療法の、および/または毒性アウトカム、例えばサイトカイン放出症候群（CRS）の評価用の検証済み動物モデルである。

30

【0573】

ROR1結合分子、例えば抗体および該抗体を含むキメラ受容体ならびにそれを発現する細胞は任意の適当な手段によって、例えば注射、例えば静脈内もしくは皮下注射、眼内注射、眼球周囲注射、網膜下注射、硝子体内注射、経中隔注射、強膜下注射、脈絡膜内注射、前房内注射、結膜下（subconjunctival）注射、結膜下（subconjunctival）注射、テノン嚢下注射、眼球後注射、球周囲注射または後強膜近傍（posterior juxtasclearal）送達によって投与され得る。いくつかの態様において、該細胞は、非経口、肺内および鼻腔内ならびに、局所処置が所望される場合は病巣内投与によって投与される。非経口注入としては、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、頭蓋内、胸郭内または皮下投与が挙げられる。投薬および投与は一部において、投与が短時間か長期間かに依存し得る。種々の投薬スケジュールとしては、非限定的に、単回投与または種々の時間点における反復投与、ボラス投与およびパルス注入が挙げられる。

40

【0574】

疾患の予防または治療では、該結合分子または細胞の適切な投薬量は、治療対象の疾患の型、結合分子の型、疾患の重症度および経過、結合分子が予防目的で投与されるのか治

50

療目的で投与されるのか、治療歴、患者の病歴および結合分子に対する反応ならびに担当医の裁量に依存し得る。該組成物および分子および細胞はいくつかの態様において、患者に対して1回で、または一連の処置において適切に投与される。

【0575】

疾患の型および重症度に応じて、抗体の投薬量としては、 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ もしくは約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ から $15\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $15\text{mg}/\text{kg}$ （例えば、 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ から $10\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $10\text{mg}/\text{kg}$ ）、 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ もしくは約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ から $100\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $100\text{mg}/\text{kg}$ またはそれ以上、 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ から $10\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $10\text{mg}/\text{kg}$ 、 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ 、 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ 、または $10\text{mg}/\text{kg}$ もしくは約 $10\text{mg}/\text{kg}$ が挙げられ得る。反復用量は、例えば毎週または3週間毎に、断続的に投与され得る。最初に高負荷用量を投与し、その後、1回または複数回の低用量を投与してもよい。

【0576】

一部の特定の態様において、該細胞または個々の細胞サブタイプ集団は、10万もしくは約10万個～1000億もしくは約1000億個の範囲の細胞、かつ/または対象の体重1キログラムあたり当該量の細胞で対象に投与され、例えば、10万もしくは約10万個～500億もしくは約500億個の細胞（例えば、500万もしくは約500万個の細胞、2500万もしくは約2500万個の細胞、5億もしくは約5億個の細胞、10億もしくは約10億個の細胞、50億もしくは約50億個の細胞、200億もしくは約200億個の細胞、300億もしくは約300億個の細胞、400億もしくは約400億個の細胞、もしくは前記の値のいずれか2つによって画定される範囲）、100万もしくは約100万個～500億もしくは約500億個の細胞（例えば、500万もしくは約500万個の細胞、2500万もしくは約2500万個の細胞、5億もしくは約5億個の細胞、10億もしくは約10億個の細胞、50億もしくは約50億個の細胞、200億もしくは約200億個の細胞、300億もしくは約300億個の細胞、400億もしくは約400億個の細胞、もしくは前記の値のいずれか2つによって画定される範囲）、例えば1000万もしくは約1000万個～1000億もしくは約1000億個の細胞（例えば、2000万もしくは約2000万個の細胞、3000万もしくは約3000万個の細胞、4000万もしくは約4000万個の細胞、6000万もしくは約6000万個の細胞、7000万もしくは約7000万個の細胞、8000万もしくは約8000万個の細胞、9000万もしくは約9000万個の細胞、100億もしくは約100億個の細胞、250億もしくは約250億個の細胞、500億もしくは約500億個の細胞、750億もしくは約750億個の細胞、900億もしくは約900億個の細胞、もしくは前記の値のいずれか2つによって画定される範囲）、およびいくつかの場合では、1億もしくは約1億個～500億もしくは約500億個の細胞（例えば、1億2000万もしくは約1億2000万個の細胞、2億5000万もしくは約2億5000万個の細胞、3億5000万もしくは約3億5000万個の細胞、6億5000万もしくは約6億5000万個の細胞、8億もしくは約8億個の細胞、9億もしくは約9億個の細胞、30億もしくは約30億個の細胞、300億もしくは約300億個の細胞、450億もしくは約450億個の細胞）などの細胞量、あるいはこれらの範囲間に含まれる任意の値かつ/または対象の体重1キログラムあたり任意の値で投与される。投薬量は、疾患もしくは障害および/または患者および/または他の処置に特定の属性に応じて異なり得る。かかる値は、いくつかの態様では組換え受容体発現細胞の数を示し；他の態様では投与されるT細胞またはPBMCまたは全細胞の数を示す。

【0577】

いくつかの態様において、例えば対象がヒトである場合、用量としては、約 5×10^8 個より少ない全組換え受容体（例えば、CAR）発現細胞、T細胞、または末梢血単核球（PBMC）、例えば 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個のかかる細胞、例えば、 2×10^6 もしくは約 2×10^6 個、 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個、 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個、 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個、 1.5×10^8 もしくは約 1.5×10^8 個、または 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の範囲、あるいは前記の値のいずれか2つの間の範囲のかかる全細胞が挙げられる。いくつかの態様において、例えば対象がヒトである場合、用量としては、 1×10^6 または約 1×10^6 個より多く 2×10^9 または

約 2×10^9 個より少ない全組換え受容体（例えば、CAR）発現細胞、T細胞、または末梢血単核球（PBMC）、例えば、 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個～ 1.2×10^9 もしくは約 1.2×10^9 個の範囲のかかる細胞、例えば、 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個、 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個、 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個、 1.5×10^8 もしくは約 1.5×10^8 個、 8×10^8 もしくは約 8×10^8 個、または 1.2×10^9 もしくは約 1.2×10^9 個、あるいは前記の値のいずれか2つの間の範囲のかかる全細胞が挙げられる。

【0578】

いくつかの態様において、遺伝子改変細胞の用量は、少なくとも 1×10^5 もしくは少なくとも約 1×10^5 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CAR発現（CAR⁺）T細胞、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 2.5×10^6 もしくは約 2.5×10^6 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 2.5×10^6 もしくは約 2.5×10^6 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^6 もしくは約 2.5×10^6 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^6 もしくは約 2.5×10^6 個～ 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^6 もしくは約 2.5×10^6 個～ 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^6 もしくは約 2.5×10^6 個～ 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^6 もしくは約 2.5×10^6 個～ 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^6 もしくは約 2.5×10^6 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^6 もしくは約 2.5×10^6 個～ 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個の全CAR⁺T細胞、 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個～ 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個～ 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個～ 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個～ 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個～ 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個～ 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個～ 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個～ 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個～ 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個～ 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個～ 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個の全CAR⁺T細胞、 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個～ 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個～ 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個～ 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CAR⁺T細胞を含む。いくつかの態様において、遺伝子改変細胞の用量は、 2.5×10^7

10

20

30

40

50

もしくは約 2.5×10^7 個～ 1.5×10^8 もしくは約 1.5×10^8 個の全CAR⁺T細胞、例えば 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個～ 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個の全CAR⁺T細胞を含む。

【0579】

いくつかの態様において、遺伝子改変細胞の用量は、少なくとも 1×10^5 もしくは少なくとも約 1×10^5 個のCAR⁺細胞、少なくとも 2.5×10^5 もしくは少なくとも約 2.5×10^5 個のCAR⁺細胞、少なくとも 5×10^5 もしくは少なくとも約 5×10^5 個のCAR⁺細胞、少なくとも 1×10^6 もしくは少なくとも約 1×10^6 個のCAR⁺細胞、少なくとも 2.5×10^6 もしくは少なくとも約 2.5×10^6 個のCAR⁺細胞、少なくとも 5×10^6 もしくは少なくとも約 5×10^6 個のCAR⁺細胞、少なくとも 1×10^7 もしくは少なくとも約 1×10^7 個のCAR⁺細胞、少なくとも 2.5×10^7 もしくは少なくとも約 2.5×10^7 個のCAR⁺細胞、少なくとも 5×10^7 もしくは少なくとも約 5×10^7 個のCAR⁺細胞、少なくとも 1×10^8 もしくは少なくとも約 1×10^8 個のCAR⁺細胞、少なくとも 1.5×10^8 もしくは少なくとも約 1.5×10^8 個のCAR⁺細胞、少なくとも 2.5×10^8 もしくは少なくとも約 2.5×10^8 個のCAR⁺細胞、または少なくとも 5×10^8 もしくは少なくとも約 5×10^8 個のCAR⁺細胞を含む。

【0580】

いくつかの態様において、細胞療法は、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全組換え受容体発現細胞、全T細胞もしくは全末梢血単核球（PBMC）、 5×10^5 もしくは約 5×10^5 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個の全組換え受容体発現細胞、全T細胞もしくは全末梢血単核球（PBMC）または 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個の全組換え受容体発現細胞、全T細胞もしくは全末梢血単核球（PBMC）の細胞数を含む用量の投与を含み、各々は両端の値を含む。いくつかの態様において、細胞療法は、少なくとも 1×10^5 または少なくとも約 1×10^5 個の全組換え受容体発現細胞、全T細胞もしくは全末梢血単核球（PBMC）、少なくとも 1×10^6 もしくは少なくとも 1×10^6 、少なくとも 1×10^7 もしくは少なくとも約 1×10^7 、少なくとも 1×10^8 もしくは少なくとも約 1×10^8 個のようなかかる細胞の細胞数を含む細胞用量の投与を含む。いくつかの態様において、数値は、CD3⁺またはCD8⁺の総数に関するもの、また、いくつかの場合では組換え受容体発現（例えば、CAR⁺）細胞の総数に関するものである。いくつかの態様において、細胞療法は、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個のCD3⁺もしくはCD8⁺全T細胞またはCD3⁺もしくはCD8⁺組換え受容体発現細胞、 5×10^5 もしくは約 5×10^5 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個のCD3⁺もしくはCD8⁺全T細胞またはCD3⁺もしくはCD8⁺組換え受容体発現細胞、または 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個のCD3⁺もしくはCD8⁺全T細胞またはCD3⁺もしくはCD8⁺組換え受容体発現細胞の細胞数を含む用量の投与を含み、各々は両端の値を含む。いくつかの態様において、細胞療法は、 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全CD3⁺/CAR⁺もしくはCD8⁺/CAR⁺細胞、 5×10^5 もしくは約 5×10^5 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個の全CD3⁺/CAR⁺もしくはCD8⁺/CAR⁺細胞、または 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個の全CD3⁺/CAR⁺もしくはCD8⁺/CAR⁺細胞の細胞数を含む用量の投与を含み、各々は両端の値を含む。

【0581】

いくつかの態様において、用量中のT細胞としては、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞またはCD4⁺およびCD8⁺T細胞が挙げられる。

【0582】

いくつかの態様において、例えば対象がヒトである場合、用量中、例えばCD4⁺およびCD8⁺T細胞を含む用量におけるCD8⁺T細胞としては、 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個～ 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全組換え受容体（例えば、CAR）発現CD8⁺細胞、例えば 5×10^6 もしくは約 5×10^6 個～ 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個の範囲のかかる細胞、例えば 1×10^7 、 2.5×10^7 、 5×10^7 、 7.5×10^7 、 1×10^8 、 1.5×10^8 、または 5×10^8 個のかかる全細胞、または前記の値のいずれか2つの間の範囲が挙げられる。いくつかの態様において、患者には反復用量が投与され、各用量または全用量が前記の値のいずれかの範囲内であり得る。いくつかの態様において、細胞用量は、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個～ 0.75×1

0^8 もしくは約 0.75×10^8 個の全組換え受容体発現 $CD8^+$ T細胞、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個～ 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個の全組換え受容体発現 $CD8^+$ T細胞、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個～ 0.25×10^8 もしくは約 0.25×10^8 個の全組換え受容体発現 $CD8^+$ T細胞の投与を含み、各々は両端の値を含む。いくつかの態様において、細胞用量は、 1×10^7 もしくは約 1×10^7 個、 2.5×10^7 もしくは約 2.5×10^7 個、 5×10^7 もしくは約 5×10^7 個、 7.5×10^7 もしくは約 7.5×10^7 個、 1×10^8 もしくは約 1×10^8 個、 1.5×10^8 もしくは約 1.5×10^8 個、 2.5×10^8 もしくは約 2.5×10^8 個、または 5×10^8 もしくは約 5×10^8 個の全組換え受容体発現 $CD8^+$ T細胞の投与を含む。

【0583】

いくつかの態様において、該用量の細胞（例えば組換え受容体発現T細胞）は、対象に単回用量として投与されるか、または2週間、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年間、もしくはそれより長い期間内に1回だけ投与される。

【0584】

いくつかの態様において、該細胞または抗体は、併用治療の一部として、別の治療介入（例えば、別の抗体または改変細胞または受容体または薬剤、例えば細胞傷害剤もしくは治療用薬剤）と同時に投与されるか、あるいは任意の順序で逐次投与される。

【0585】

いくつかの態様における該細胞または抗体は、1種類もしくは複数種の追加の治療用薬剤と共に、または別の治療介入と関連させて、同時または任意の順序で逐次のいずれかで共投与される。いくつかの状況において、該細胞は、別の治療薬と共に、該細胞集団によって1種類または複数種の追加の治療用薬剤の効果が増強されるように、またはその逆も同様となるように時間的に十分に近接して共投与される。いくつかの態様において、該細胞または抗体は該1種類または複数種の追加の治療用薬剤の前に投与される。いくつかの態様において、該細胞または抗体は該1種類または複数種の追加の治療用薬剤の後に投与される。

【0586】

該細胞が哺乳動物（例えば、ヒト）に投与されたら、いくつかの局面における改変細胞集団および/または抗体の生物学的活性がいくつかの公知の方法のいずれかによって測定される。評価するためのパラメータとしては、例えばイメージングによるインビボでの、または例えばELISAもしくはフローサイトメトリーによるエキソビボでの抗原に対する改変されたもしくは天然のT細胞または他の免疫細胞の特異的結合が挙げられる。一部の特定の態様では、改変細胞が標的細胞を破壊する能力が、例えばKochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32 (7):689-702 (2009) およびHerman et al. J. Immunological Methods, 285 (1):25-40 (2004) に記載の細胞傷害性アッセイなどの任意の適当な公知の方法を用いて測定され得る。また、一部の特定の態様では、該細胞の生物学的活性は、ある特定のサイトカイン、例えば $CD107a$ 、 $IFN\gamma$ 、 $IL-2$ および TNF の発現および/または分泌をアッセイすることにより測定され得る。いくつかの局面において、生物学的活性は、臨床転帰、例えば腫瘍量または腫瘍細胞量の低減を評価することによって測定される。

【0587】

一部の特定の態様において、改変細胞は、任意の数の方法で、その治療有効性または予防有効性が高まるように改変される。例えば、いくつかの態様における該集団によって発現される改変されたCARまたはTCRは、直接またはリンカーを介して間接的のいずれかでターゲティング部分にコンジュゲートされる。化合物、例えばCARまたはTCRをターゲティング部分にコンジュゲートさせる実務は当技術分野において公知である。例えばWadwa et al., J. Drug Targeting, 3 (2):111 (1995)および米国特許5,087,616を参照のこと。

【0588】

B. 併用療法

また、 $ROR1$ 結合分子、例えば抗 $ROR1$ 抗体、例えば抗体断片、コンジュゲート、およびそれを含むタンパク質、例えば組換え受容体（例えば、CAR）、該組換え受容体（例えば、CAR）を発現する改変細胞、該受容体を発現している複数の改変細胞、および/またはそ

10

20

30

40

50

れを含む組成物の投与ならびに使用（例えば、治療的使用および予防的使用）を含む、併用療法の方法が提供される。

【0589】

いくつかの態様において、本明細書に記載のROR1結合分子（例えば、抗体）、イムノコンジュゲート、組換え受容体（例えば、キメラ抗原受容体）および/または前記分子（例えば、組換え受容体）を発現する改変細胞は、併用治療または併用療法の一部として、例えば1つまたは複数の追加の治療介入と同時に、任意の順序で逐次または間欠的に投与される。いくつかの態様において、該1つまたは複数の追加の治療介入は、例えば抗体、改変細胞、受容体および/または薬剤、例えば組換え受容体を発現する細胞および/または細胞傷害剤もしくは治療用薬剤、例えば化学療法剤を含む。いくつかの態様において、併用療法は、1種類または複数種の追加の薬剤、治療薬および/または処置薬、例えば本明細書に記載の追加の薬剤、治療薬および/または処置薬のいずれかの投与を含む。いくつかの態様において、併用療法は、処置または治療のための1種類または複数種の追加の薬剤、例えば免疫調節剤、免疫チェックポイント阻害薬、アデノシン経路またはアデノシン受容体の拮抗薬または作動薬およびキナーゼ阻害薬の投与を含む。いくつかの態様において、併用治療または併用療法は、追加の処置、例えば外科処置、移植および/または放射線療法を含む。また、本明細書に記載の結合分子（例えば、ROR1結合分子）、組換え受容体、細胞および/または組成物の投与と1つまたは複数の追加の治療介入とを含む、併用治療または併用療法の方法が提供される。

10

【0590】

いくつかの態様において、併用治療または併用療法のための該追加の薬剤は、結合分子、組換え受容体、細胞および/または組成物の治療効果の有効性および/または安全性を向上、増進および/または促進させる。いくつかの態様において、該追加の薬剤は、投与された細胞、例えば該結合分子または組換え受容体を発現する細胞の有効性、生存または持続を向上または改善する。いくつかの態様において、該追加の薬剤は、プロテインホスファターゼ阻害剤、キナーゼ阻害剤、サイトカイン、免疫調節薬、または制御性T（Treg）細胞のレベルもしくは活性を低下させる薬剤の中から選択される。いくつかの態様において、該追加の薬剤は、投与された結合分子、組換え受容体、細胞および/または組成物の有害効果を低減または寛解させるという長所によって安全性を向上させる。いくつかの態様において、該追加の薬剤は同じ疾患、病態または併存疾患を治療できる。いくつかの態様において、該追加の薬剤は、該結合分子、組換え受容体、細胞および/または組成物、例えばCAR発現細胞の投与と関連している1つまたは複数の毒性、有害効果または副作用を寛解、低減、または解消させることができる。

20

30

【0591】

いくつかの態様において、該追加の治療、処置または薬剤としては、化学療法、放射線療法、手術、移植、養子細胞療法、抗体、細胞傷害剤、化学療法剤、サイトカイン、成長阻害剤、抗ホルモン剤、キナーゼ阻害剤、血管新生抑制剤、心臓保護薬、免疫賦活剤、免疫抑制剤、免疫チェックポイント阻害薬、抗生物質、血管新生阻害剤、代謝調節薬もしくは他の治療用薬剤またはその任意の組合せが挙げられる。いくつかの態様において、該追加の薬剤はタンパク質、ペプチド、核酸、小分子薬剤、細胞、毒素、脂質、糖質またはその組合せ、あるいは任意の他の型の治療用薬剤、例えば放射線である。いくつかの態様において、該追加の治療、薬剤または処置としては、手術、化学療法、放射線療法、移植、組換え受容体（例えばCAR）を発現する細胞の投与、キナーゼ阻害剤、免疫チェックポイント阻害薬、mTOR経路阻害剤、免疫抑制剤、免疫調節薬、抗体、免疫破壊（immunoablative）剤、抗体および/またはその抗原結合断片、抗体コンジュゲート、他の抗体治療薬、細胞毒素、ステロイド、サイトカイン、ペプチドワクチン、ホルモン療法薬、代謝拮抗薬、代謝調節薬、カルシウム依存性ホスファターゼのカルシニューリンもしくはp70S6キナーゼFK506）のいずれかを阻害する薬物またはp70S6キナーゼを阻害する薬物、アルキル化剤、アントラサイクリン系、ピンカアルカロイド、プロテアソーム阻害剤、GITR作動薬、プロテインチロシンホスファターゼ阻害剤、プロテインキナーゼ阻害剤、腫瘍溶解性

40

50

ウイルスおよび/または他の型の免疫療法薬が挙げられる。いくつかの態様において、該追加の薬剤または追加の処置は骨髄移植、フルダラビンなどの化学療法剤を用いたT細胞除去 (ablative) 治療、外照射療法 (XRT)、シクロホスファミドおよび/または抗体治療薬である。

【0592】

いくつかの態様において、該細胞、結合分子 (例えば、ROR1結合分子)、組換え受容体および/または組成物、例えばCAR発現細胞は、他の改変細胞、例えば他のCAR発現細胞と併用して投与される。いくつかの態様において、該追加の薬剤はキナーゼ阻害剤、例えばブルトン型チロシンキナーゼ (Btk) の阻害剤、例えばイブルチニブである。いくつかの態様において、該追加の薬剤はアデノシン経路またはアデノシン受容体の拮抗薬または作動薬である。いくつかの態様において、該追加の薬剤は免疫調節薬、例えばサリドマイドまたはサリドマイド誘導体 (例えば、レナリドミド) である。いくつかの態様において、該追加の治療、薬剤または処置は細胞傷害剤または化学療法剤、生物学的療法薬 (例えば、抗体、例えばモノクローナル抗体、もしくは細胞療法薬)、または阻害剤 (例えば、キナーゼ阻害剤) である。

【0593】

いくつかの態様において、化学療法剤 (場合によっては細胞傷害剤と称される) は対象に、病変部を破壊するために投与される。一部の特定の態様において、病変部は腫瘍である。特定の態様において、病変部はがん性である。特定の態様において、化学療法剤は、過剰増殖性障害、例えばがんの治療、予防、または寛解に有効であることが当業者に公知の任意の薬剤である。化学療法剤としては、非限定的に、小分子、合成の薬物、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、核酸 (例えば、DNAおよびRNAポリヌクレオチド、例えば非限定的に、アンチセンスヌクレオチド配列、三重らせんおよび生物学的に活性なタンパク質、ポリペプチドもしくはペプチドをコードするヌクレオチド配列)、抗体、合成または天然の無機分子、模倣因子および合成または天然の有機分子が挙げられる。特定の態様において、化学療法薬としては、アルキル化剤、アントラサイクリン系、細胞骨格破壊薬 (タキサン)、エポチロン、ヒストンデアセチラーゼ阻害薬、トポイソメラーゼ阻害薬、トポイソメラーゼII阻害薬、キナーゼ阻害薬、ヌクレオチドアナログおよび前駆体アナログ、ペプチド抗生物質、白金ベースの薬剤ならびにピンカアルカロイドおよび誘導体が挙げられる。

【0594】

一部の特定の態様において、病変部は、遺伝子改変細胞をインビボで調節する化学療法剤を投与することにより破壊される。化学療法剤としては、非限定的に、アバレリクス、アルデスロイキン、アレムズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アルトレタミン、アミホスチン、アナストロゾール、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、BCG生菌、ベバセイズマブ (bevaceizumab)、ベキサロテン、プレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、カルステロン、カンプトテシン、カペシタビン、カルボプラチン、カルムスチン、セロコキシブ、セツキシマブ、クロラムブシル、シナカルセット、シスプラチン、クラドリビン、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダルベポエチン α 、ダウノルビシン、デニロイキンジフチトクス、デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキソルビシン、ドロモスタノロン、エリオットB液 (Elliott's B solution)、エピルビシン、エポエチン α 、エストラムスチン、エトポシド、エキセメスタン、フィルグラスチム、フロクスウリジン、フルダラビン、フルオロウラシル、フルベストラント、ゲムシタビン、ゲムツズマブ オゾガマイシン、ゲフィチニブ、ゴセレリン、ヒドロキシ尿素、イブリツモマブ チウキセタン、イダルビシン、イホスファミド、イマチニブ、インターフェロン α -2a、インターフェロン α -2b、イリノテカン、レトロゾール、ロイコボリン、レバミゾール、ロムスチン、メクロレタミン、メゲストロール、メルファラン、メルカプトプリン、メスナ、メトトレキサート、メトキサレン、メチルプレドニゾロン、マイトマイシンC、ミトタン、ミトザントロン、ナンドロロン、ノフェツモマブ (nofetumomab)、オブリメルセン、オプレルベキン、オキサリプラチン、パクリタキセル、パミドロネート、

ペガデマゼ、ペグアスパラガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド、ペントスタチン、ピボプロマン、プリカマイシン、ポリフェプロサン、ポリフィマー、プロカルバジン、キナクリン、ラスブリカーゼ、リツキシマブ、サルグラモスチム、ストレプトゾシン、タルク、タモキシフェン、タルセバ、テモゾロミド、テニボシド、テストラクトン、チオグアニン、チオテパ、トポテカン、トレミフェン、トシツモマブ、トラスツズマブ、トレチノイン、ウラシルマスタード、バルルピシン、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ビノレルビンおよびゾレドロン酸が挙げられ得る。

【0595】

いくつかの態様において、例示的な化学療法剤としては、アントラサイクリン系（例えば、ドキソルビシン、例えばドキソルビシン含有リポソーム）；ビンカアルカロイド（例えば、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビン）；アルキル化剤（例えば、シクロホスファミド、デカルバジン（decarbazine）、メルファラン、イホスファミド、テモゾロミド）；免疫細胞抗体（例えば、アレムツズマブ、ゲムツズマブ、リツキシマブ、トシツモマブ）；代謝拮抗薬（例えば、葉酸拮抗薬、ピリミジンアナログ、プリンアナログおよびアデノシンデアミナーゼ阻害薬、例えばフルダラビンなど）；TNFRグルココルチコイド誘導性TNFR関連タンパク質（GITR）作動薬；プロテアソーム阻害剤（例えば、アクラシノマイシンA、グリオトキシンまたはボルテゾミブ）；免疫調節薬、例えばサリドマイドまたはサリドマイド誘導体（例えば、レナリドミド）が挙げられる。

【0596】

いくつかの態様において、該追加の治療または処置は細胞療法、例えば養子細胞療法である。いくつかの態様において、該追加の治療は、改変細胞、例えば追加のCAR発現細胞の投与を含む。いくつかの態様において、該追加の改変細胞は、本明細書において提供される改変細胞と同じ組換え受容体または本明細書において提供される改変細胞と異なる組換え受容体を発現するCAR発現細胞、例えば抗ROR1 CAR発現細胞である。いくつかの態様において、該追加の改変細胞上に発現される組換え受容体（例えばCAR）は、異なる抗原および/またはエピトープを認識する。いくつかの態様において、該追加の改変細胞上に発現される組換え受容体（例えばCAR）は、本明細書に記載の組換え受容体と同じ抗原、例えばROR1の異なるエピトープを認識する。いくつかの態様において、該追加の改変細胞上に発現される組換え受容体（例えばCAR）は、異なる抗原、例えば異なる腫瘍抗原または抗原の組合せを認識する。例えば、いくつかの態様において、該追加の改変細胞上に発現される組換え受容体（例えばCAR）は、初期細胞系統マーカーを発現するがん細胞、例えばがん幹細胞を標的とし、一方、他のCAR発現細胞は、後期細胞系統マーカーを発現するがん細胞を標的とする。かかる態様において、該追加の改変細胞は、本明細書に記載のCAR発現細胞の投与（例えば、注入）前、該投与（例えば、注入）と並行して、または該投与（例えば、注入）後に投与される。いくつかの態様において、該追加の改変細胞は同種異系CARを発現する。

【0597】

いくつかの態様において、CAR分子のうちの1つまたは複数の構成は、主細胞内シグナル伝達ドメインと2つまたはそれ以上の、例えば2つ、3つ、4つもしくは5つまたはそれ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、CAR分子のうちの1つまたは複数の、同じもしくは異なる主細胞内シグナル伝達ドメイン、同じもしくは異なる共刺激シグナル伝達ドメイン、または同数もしくは異なる数の共刺激シグナル伝達ドメインを有し得る。いくつかの態様において、CAR分子のうちの1つまたは複数の、CAR分子の一方が抗原結合ドメインと共刺激ドメイン（例えば、4-1BB）を含み、他方のCAR分子が抗原結合ドメインと主細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、CD3 ζ ）を含むスプリット型（split）CARとして構成され得る。

【0598】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、多重特異性結合分子、および/または本明細書に記載の1つまたは複数の結合分子を発現するように改変された細胞、および/または異なる抗原を標的とする追加の結合分子（例えば組換え受容体、例えばCAR）を発現するよう

10

20

30

40

50

に改変された細胞のうちのいずれかである。いくつかの態様において、追加の薬剤は、本明細書、例えばセクションI.Cに記載される細胞または複数種の細胞のいずれかを含む。いくつかの態様において、追加の薬剤は、異なるエピトープおよび/または抗原、例えば疾患または病態と関連している異なる抗原を標的とする組換え受容体（例えばCAR）を発現するように改変された細胞である。いくつかの態様において、追加の薬剤は、疾患または障害（例えば、がんまたは腫瘍）において発現される第2の抗原または追加の抗原を標的とする組換え受容体（例えばCAR）を発現するように改変された細胞である。

【0599】

いくつかの態様において、追加の薬剤は免疫調節剤である。いくつかの態様において、併用療法は、抗腫瘍免疫応答、例えば投与された改変細胞による抗腫瘍免疫応答を、例えば免疫抑制シグナル伝達を阻害すること、または免疫賦活シグナル伝達を増強することによって刺激、増幅および/または別の様式で増強させ得る免疫調節剤を含む。いくつかの態様において、免疫調節剤は、ペプチド、タンパク質、または小分子である。いくつかの態様において、タンパク質は融合タンパク質または組換えタンパク質であり得る。いくつかの態様において、免疫調節剤は、免疫学的標的、例えば免疫細胞、かかるT細胞、B細胞または抗原提示細胞上に発現される細胞表面受容体に結合する。例えば、いくつかの態様において、免疫調節剤は抗体もしくは抗原結合抗体断片、融合タンパク質、小分子またはポリペプチドである。いくつかの態様において、結合分子、組換え受容体、細胞、および/または組成物は、抗体またはその抗原結合断片、例えばモノクローナル抗体である追加の薬剤との組合せで投与される。

【0600】

いくつかの態様において、免疫調節剤は、免疫チェックポイント経路の構成要素をブロック、阻害、または妨害する。免疫系は、自己寛容の維持に関与し、免疫応答を調節する複数の抑制性経路を有する。腫瘍は、特定の免疫チェックポイント経路を、特に腫瘍抗原に特異的なT細胞（Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264）、例えば改変細胞、例えばCAR発現細胞に対する主要な免疫抵抗機構として使用し得る。多くのかかる免疫チェックポイントはリガンド-受容体間相互作用によって開始されるため、該リガンドおよび/またはその受容体に対する抗体によって容易にブロックされ得る。

【0601】

したがって、免疫チェックポイント経路をブロックするアンタゴニスト分子、例えば小分子、核酸阻害剤（例えば、RNAi）または抗体分子を伴う治療は、がんおよび他の疾患に対する免疫療法への将来有望な道となりつつある。ほとんどの抗がん剤とは対照的に、チェックポイント阻害剤は必ずしも腫瘍細胞を直接標的とするのではなく、免疫系の内因性抗腫瘍活性を増強するためにリンパ球受容体またはそのリガンドを標的とする。

【0602】

本明細書において使用する場合、用語「免疫チェックポイント阻害剤」は、1つまたは複数のチェックポイントタンパク質を完全に、または一部低減、阻害、干渉または調節する分子を示す。チェックポイントタンパク質はT細胞の活性化または機能を調節する。このようなタンパク質はT細胞応答の共刺激性または抑制性の相互作用を担う。免疫チェックポイントタンパク質は、自己寛容ならびに生理学的免疫応答の持続期間および大きさを調節して維持する。いくつかの態様において、対象に、疾患または病態、例えばがん、例えば本明細書に記載されるいずれかのものに対する免疫応答、例えば本明細書において提供する、結合分子（例えば、ROR-1結合分子）、細胞、および/または組成物によってもたらされる免疫応答を向上または増進させ得る追加の薬剤が投与され得る。

【0603】

免疫チェックポイント阻害剤としては、免疫系の抑制性経路を統計学的に有意な方法でブロックまたは阻害する任意の薬剤が挙げられる。そのような阻害剤としては、低分子阻害剤が挙げられ得るか、あるいは免疫チェックポイント受容体、リガンドおよび/または受容体-リガンド間相互作用に結合してブロックまたは阻害する抗体またはその抗原結合断片が挙げられ得る。いくつかの態様において、特定の受容体の調節、増強、および/または刺

激は、免疫チェックポイント経路の構成要素を圧倒し得る。ブロック、阻害、調節、増強、および/または刺激のために標的とされ得る実例の免疫チェックポイント分子としては、限定するわけではないが、PD-1 (CD279)、PD-L1 (CD274、B7-H1)、PDL2 (CD273、B7-DC)、CTLA-4、LAG-3 (CD223)、TIM-3、4-1BB (CD137)、4-1BBL (CD137L)、GITR (TNFRSF18、AITR)、CD40、OX40 (CD134、TNFRSF4)、CXCR2、腫瘍関連抗原 (TAA)、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、GAL9、B7H3、B7H4、VISTA、KIR、2B4 (CD2分子ファミリーに属し、すべてのNK、 $\gamma\delta$ およびメモリーCD8⁺ ($\alpha\beta$) T細胞上に発現される)、CD160 (BY55とも称される)、CGEN-15049、CEACAM (例えば、CEACAM-1、CEACAM-3および/またはCEACAM-5)、TIGIT、LAI R1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14またはCD270)、KIR、A2aR、MHCクラスI、MHCクラスII、GAL9、アデノシンならびにトランスフォーミング増殖因子受容体 (TGFR; 例えば、TGFR β) が挙げられる。免疫チェックポイント阻害剤としては、前記分子のいずれかの1つまたは複数に結合してその活性をブロックもしくは阻害および/または増強もしくは刺激する抗体もしくはその抗原結合断片または他の結合タンパク質が挙げられる。

【0604】

例示的な免疫チェックポイント阻害剤としては、トレメリムマブ (CTLA-4ブロック抗体、チシリムマブ、CP-675,206としても知られる)、抗OX40、PD-L1モノクローナル抗体 (抗B7-H1; MEDI4736)、MK-3475 (PD-1遮断薬)、ニボルマブ (抗PD-1抗体)、CT-011 (抗PD-1抗体)、BY55モノクローナル抗体、AMP224 (抗PD-L1抗体)、BMS-936559 (抗PD-L1抗体)、MPLDL3280A (抗PD-L1抗体)、MSB0010718C (抗PD-L1抗体) ならびにイピリムマブ (抗CTLA-4抗体、ヤーボイ (登録商標)、MDX-010およびMDX-101としても知られる) が挙げられる。免疫調節性抗体の例としては、限定するわけではないが、ダクリズマブ (ゼナパックス)、ペバシズマブ (アバステン (登録商標))、バシリキシマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、MPDL3280A、ピジリズマブ (CT-011)、MK-3475、BMS-936559、MPDL3280A (アテゾリズマブ)、トレメリムマブ、IMP321、BMS-986016、LAG525、ウレルマブ、PF-05082566、TRX518、MK-4166、ダセツズマブ (SGN-40)、ルカツムマブ (lucatumumab) (HCD122)、SEA-CD40、CP-870、CP-893、MEDI6469、MEDI6383、MOXR0916、AMP-224、MSB0010718C (アベルマブ)、MEDI4736、PDR001、rHIgM12B7、ウロクプルマブ (Ulocuplumab)、BKT140、バルリルマブ (CDX-1127)、ARGX-110、MGA271、リリルマブ (BMS-986015、IPH2101)、IPH2201、ARGX-115、エマクツツマブ、CC-90002ならびにMNRP1685Aまたはその抗体結合断片が挙げられる。他の例示的な免疫調節薬としては、例えば、アフツズマブ (Roche (登録商標) から入手可能); ペグフィルグラスチム (Neulasta (登録商標)); レナリドミド (CC-5013、レブラミド (登録商標)); サリドマイド (サロミド (登録商標))、アクチミド (actimid) (CC4047); ならびにIRX-2 (インターロイキン1、インターロイキン2およびインターフェロン γ を含むヒトサイトカインの混合物、CAS 951209-71-5、IRX Theapeuticsから入手可能) が挙げられる。

【0605】

プログラム細胞死1 (PD-1) は、B細胞、NK細胞およびT細胞において発現する免疫チェックポイントタンパク質である (Shinohara et al., 1995, Genomics 23:704-6; Blank et al., 2007, Cancer Immunol Immunother 56:739-45; Finger et al., 1997, Gene 197:177-87; Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264)。PD-1の主な役割は、炎症時に感染に応答して末梢組織内のT細胞の活性を制限すること、ならびに自己免疫を制限することである。PD-1発現は活性化されたT細胞において誘導され、PD-1のその内在性リガンドのうちの1つへの結合は、刺激性キナーゼが阻害されることによってT細胞の活性化が阻害されるように作用する。また、PD-1は、TCRの「ストップシグナル」が阻害されるように作用する。PD-1は、Treg細胞上に高度に発現され、リガンドの存在下でその増殖が増大し得る (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:25

10

20

30

40

50

2-264)。抗PD-1抗体は、メラノーマ、非小細胞肺癌、膀胱癌、前立腺癌、結腸直腸癌、頭頸部癌、トリプルネガティブ乳癌、白血病、リンパ腫および腎細胞癌の治療に使用されている (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54 ; Lipson et al., 2013, Clin Cancer Res 19:462-8 ; Berger et al., 2008, Clin Cancer Res 14:3044-51 ; Gildener-Leapman et al., 2013, Oral Oncol 49:1089-96 ; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85)。例示的な抗PD-1抗体としては、ニボルマブ (BMSによるオプジーボ)、ペンブロリズマブ (Merckによるキイトルーダ)、ピジリズマブ (Cure TechによるCT-011)、ランブロリズマブ (MerckによるMK-3475) およびAMP-224 (Merck) が挙げられ、ニボルマブ (オプジーボ、BMS-936558またはMDX1106とも称される ; Bristol-Myers Squibb) PD-1を特異的にブロックする完全ヒトIgG4モノクローナル抗体である。ニボルマブ (クローン5C4) およびPD-1に特異的に結合する他のヒトモノクローナル抗体はUS 8,008,449およびWO2006/121168に記載されている。ピジリズマブ (CT-011 ; Cure Tech) は、PD-1に結合するヒト化IgG1kモノクローナル抗体である。ピジリズマブおよび他のヒト化抗PD-1モノクローナル抗体はWO2009/101611に記載されている。ペンブロリズマブ (以前はランブロリズマブとして公知、キイトルーダとも称される、MK03475 ; Merck) は、PD-1に結合するヒト化IgG4モノクローナル抗体である。ペンブロリズマブおよび他のヒト化抗PD-1抗体はUS 8,354,509およびWO2009/114335に記載されている。他の抗PD-1抗体としては、AMP 514 (Ampimmune)、とりわけ、例えばUS 8,609,089、US 2010028330、US 20120114649および/またはUS 20150210769に記載された抗PD-1抗体が挙げられる。AMP-224 (B7-DCIg ; Amplimmune ; 例えばWO2010/027827およびWO2011/066342に記載) は、PD-1とB7-H1間の相互作用をブロックするPD-L2 Fc融合可溶性受容体である。

【0606】

PD-L1 (CD274およびB7-H1としても知られる) およびPD-L2 (CD273およびB7-DCとしても知られる) は、活性化されたT細胞、B細胞、骨髄細胞、マクロファージおよびいくつかの型の腫瘍細胞上にみられるPD-1のリガンドである。抗腫瘍治療は抗PD-L1抗体に注力されている。PD-1とPD-L1の複合体はCD8⁺T細胞の増殖を阻害し、免疫応答を低減させる (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54 ; Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65)。抗PD-L1抗体は、非小細胞肺癌、メラノーマ、結腸直腸癌、腎細胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巣癌、乳癌、および血液悪性腫瘍の治療に使用されている (Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65 ; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300-9 ; Radvanyi et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5541 ; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85 ; Berger et al., 2008, Clin Cancer Res 14:13044-51)。例示的な抗PD-L1抗体としては、MDX-1105 (Medarex)、MEDI4736 (Medimmune) MPDL3280A (Genentech)、BMS-935559 (Bristol-Myers Squibb) およびMSB0010718Cが挙げられる。MEDI4736 (Medimmune) は、PD-L1に結合し、このリガンドとPD-1との相互作用を阻害するヒトモノクローナル抗体である。MDPL3280A (Genentech/Roche) は、PD-L1に結合するヒトFc最適化IgG1モノクローナル抗体である。MDPL3280AおよびPD-L1に対する他のヒトモノクローナル抗体は米国特許第7,943,743号および米国特許出願公開第20120039906号に記載されている。他の抗PD-L1結合剤としては、YW243.55.570 (WO2010/077634参照) およびMDX-1105 (BMS-936559とも称され、例えばWO2007/005874に記載された抗PD-L1結合剤) が挙げられる。

【0607】

CD152としても知られる細胞傷害性T-リンパ球関連抗原 (CTLA-4) は、T細胞の活性化を調節するために機能する共抑制性分子である。CTLA-4は、T細胞上の排他的に発現される免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーである。CTLA-4は、T細胞の活性化が阻害されるように作用し、ヘルパーT細胞の活性を阻害して制御性T細胞の免疫抑制活性を増強することが報告されている。CTLA-4の厳密な作用機序はまだ究明中であるが、これは、CD80およびCD86に対する結合においてCD28を打ち負かすこと、ならびに阻害シグ

10

20

30

40

50

ナルをT細胞に能動的に送達することによってT細胞の活性化を阻害することが示唆されている (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264)。抗CTLA-4抗体は、臨床試験でメラノーマ、前立腺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌の治療のために使用されている (Robert & Ghiringhelli, 2009, Oncologist 14:848-61; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300; Weber, 2007, Oncologist 12:864-72; Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89)。抗CTLA-4の重要な特徴は抗腫瘍効果の速度論であり、初期の処置後、生理学的応答のために6ヶ月に至るまでの遅延期間が必要とされる。いくつかの場合において、腫瘍は実際、処置開始後、サイズが大きくなり得、その後、縮小がみられる (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264)。例示的な抗CTLA-4抗体としては、イピリムマブ (Bristol-Myers Squibb) およびトレメリムマブ (Pfizer) が挙げられる。イピリムマブは最近、転移性メラノーマの治療に対してFDAの承認を受けた (Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89)。

【0608】

CD223としても知られるリンパ球活性化遺伝子-3 (LAG-3) は、別の免疫チェックポイントタンパク質である。LAG-3は、リンパ球の活性阻害およびいくつかの場合においてリンパ球アネルギーの誘導と関連する。LAG-3は、免疫系の種々の細胞、例えばB細胞、NK細胞および樹状細胞上に発現される。LAG-3はMHCクラスII受容体の天然リガンドであり、強力な免疫抑制活性が賦与されたものを含むメラノーマ浸潤T細胞上にかなり発現される。例示的な抗LAG-3抗体としては、LAG-3を標的とするモノクローナル抗体であるBMS-986016 (Bristol-Myers Squibb) が挙げられる。IMP701 (Immutep) はLAG-3アンタゴニスト抗体であり、IMP731 (ImmutepおよびGlaxoSmithKline) はLAG-3除去抗体である。他のLAG-3阻害剤としては、LAG-3の可溶性部分と、MHCクラスII分子に結合して抗原提示細胞 (APC) を活性化させるIgとの組換え融合タンパク質であるIMP321 (Immutep) が挙げられる。他の抗体は、例えばWO2010/019570およびUS 2015/0259420に記載されている。

【0609】

T細胞免疫グロブリンドメインおよびムチンドメイン-3 (TIM-3) は、活性化されたTh1細胞上において最初に同定され、免疫応答の負の調節因子であることが示されている。TIM-3のブロックはT細胞媒介性抗腫瘍免疫を促進させ、ある範囲のマウス腫瘍モデルにおいて抗腫瘍活性を有する。TIM-3のブロックと他の免疫療法剤、例えばTSR-042、抗CD137抗体などの組合せは抗腫瘍効果の増大において相加的または相乗的であり得る。TIM-3の発現はいくつかの異なる腫瘍型、例えばメラノーマ、NSCLCおよび腎癌と関連しており、さらに、腫瘍内TIM-3の発現は、ある範囲の腫瘍型、例えばNSCLC、子宮頸癌および胃癌において予後不良と相関することが示されている。また、TIM-3のブロックは、いくつかの慢性ウイルス性疾患に対する免疫増進の向上にも重要である。また、TIM-3は、いくつかのリガンド、例えばガレクチン-9、ホスファチジルセリンおよびHMGB1と相互作用することも示されているが、あるとすればこれらのうちのどれが抗腫瘍応答の調節に重要であるのかは現時点では明らかでない。いくつかの態様において、TIM-3を標的とする抗体、抗体断片、低分子またはペプチド阻害剤は、TIM-3のIgVドメインに結合してそのリガンドとの相互作用を阻害し得る。TIM-3を阻害する例示的な抗体およびペプチドはUS 2015/0218274、WO2013/006490およびUS 2010/0247521に記載されている。他の抗TIM-3抗体としては、ヒト化型のRMT3-23 (Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71:3540-3551) およびクローン8B.2C12 (Monney et al., 2002, Nature, 415:536-541) が挙げられる。TIM-3とPD-1を阻害する二重特異性抗体はUS 2013/0156774に記載されている。

【0610】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、CEACAM阻害剤 (例えば、CEACAM-1、CEACAM-3および/またはCEACAM-5阻害剤) である。いくつかの態様において、CEACAMの阻害剤は抗CEACAM抗体分子である。例示的な抗CEACAM-1抗体はWO 2010/125571、WO 2013/082366 WO 2014/059251およびWO 2014/022332に記載されてお

10

20

30

40

50

り、例えば、モノクローナル抗体34B1、26H7および5F4；または例えばUS 2004/0047858、US 7,132,255およびWO 99/052552に記載のその組換え形態。いくつかの態様において、抗CEACAM抗体は、例えばZheng et al., PLoS One. (2011) 6 (6): e21146)に記載のようにCEACAM-5に結合するか、または例えばWO 2013/054331およびUS 2014/0271618に記載のようにCEACAM-1およびCEACAM-5と交差反応する。

【0611】

CD137としても知られる4-1BBは、TNFRスーパーファミリーに属する膜貫通型糖タンパク質である。4-1BB受容体は、活性化されたT細胞およびB細胞および単球上に存在する。例示的抗4-1BB抗体はウレルマブ（BMS-663513）であり、これは潜在的免疫賦活活性および抗新生物活性を有する。

【0612】

OX40およびCD134としても知られる腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー、メンバー4（TNFRSF4）はTNFRスーパーファミリーの別のメンバーである。OX40は休止期のナイーブT細胞上に構成的に発現されず、副の共刺激免疫チェックポイント分子として作用する。例示的な抗OX40抗体はMEDI6469およびMOXR0916（RG7888, Genentech）。

【0613】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、制御性T細胞（Treg）集団を減少させる分子を含む。Treg細胞の数を減らす（例えば、除去する）方法は公知であり、例えば、CD25除去、シクロホスファミド投与、およびグルココルチコイド誘導性TNFRファミリー関連遺伝子（GITR）機能の調節が挙げられる。GITRは、活性化されたT細胞において上方調節されるTNFRスーパーファミリーのメンバーであり、免疫系を増強する。アフエレーシス前または改変細胞、例えばCAR発現細胞の投与前の対象のTreg細胞の数を減らすと、腫瘍微小環境において不要な免疫細胞（例えば、Treg）の数が減少し得、対象の再発リスクが低下する。いくつかの態様において、追加の薬剤は、GITRを標的とする、および/またはGITR機能を調節する分子、例えばGITRアゴニストおよび/または制御性T細胞（Treg）を除去するGITR抗体を含む。いくつかの態様において、追加の薬剤はシクロホスファミドを含む。いくつかの態様において、GITR結合分子および/またはGITR機能を調節する分子（例えば、GITRアゴニストおよび/またはTreg除去GITR抗体）は、改変細胞、例えばCAR発現細胞の前に投与される。例えば、いくつかの態様において、GITRアゴニストは該細胞のアフエレーシスの前に投与され得る。いくつかの態様において、シクロホスファミドは対象に、改変細胞、例えばCAR発現細胞の投与（例えば、注入もしくは再注入）の前または該細胞のアフエレーシスの前に投与される。いくつかの態様において、シクロホスファミドと抗GITR抗体が対象に、改変細胞、例えばCAR発現細胞の投与（例えば、注入もしくは再注入）の前または該細胞のアフエレーシスの前に投与される。

【0614】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、GITRアゴニストである。例示的なGITRアゴニストとしては、例えば、GITR融合タンパク質および抗GITR抗体（例えば、二価の抗GITR抗体）、例えば、米国特許第6,111,090号、欧州特許第090505B 1号、米国特許第8,586,023号、WO 2010/003118および2011/090754に記載されたGITR融合タンパク質など、または例えば米国特許第7,025,962号、欧州特許第1947183B 1号、米国特許第7,812,135号、米国特許第8,388,967号、米国特許第8,591,886号、欧州特許第1866339号、WO 2011/028683、WO 2013/039954、WO2005/007190、WO 2007/133822、WO2005/055808、WO 99/40196、WO 2001/03720、WO99/20758、WO2006/083289、WO 2005/115451、米国特許第7,618,632号、およびWO 2011/051726に記載の抗GITR抗体が挙げられる。例示的抗GITR抗体はTRX518である。

【0615】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、投与される細胞、例えばCAR発現細胞の腫瘍浸潤または通り抜けを増強する。例えば、いくつかの態様において、追加の薬剤はCD40、例えばCD40L、例えば組換えヒトCD40Lを刺激する。表面抗原分類40（CD40）もま

10

20

30

40

50

たTNFRスーパーファミリーのメンバーである。CD40は、抗原提示細胞上にみられる共刺激タンパク質であり、広範な様々な免疫応答および炎症性応答を媒介する。また、CD40はいくつかの悪性腫瘍上にも発現され、この場合これは増殖を促進させる。例示的な抗CD40抗体はダセツズマブ（SGN-40）、ルカツムマブ（Novartis, アンタゴニスト）、SEA-CD40（Seattle Genetics）およびCP-870,893である。いくつかの態様において、腫瘍浸潤を増強する追加の薬剤としては、チロシンキナーゼ阻害剤のスニチニブ、ヘパラナーゼおよび/またはケモカイン受容体、例えばCCR2、CCR4およびCCR7が挙げられる。

【0616】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は、サリドマイドの構造的もしくは機能的アナログもしくは誘導体および/またはE3ユビキチンリガーゼの阻害剤である。いくつかの態様において、該免疫調節剤はセレブロン（CRBN）に結合する。いくつかの態様において、該免疫調節剤はCRBN E3ユビキチン-リガーゼ複合体に結合する。いくつかの態様において、該免疫調節剤はCRBNおよびCRBN E3ユビキチン-リガーゼ複合体に結合する。いくつかの態様において、該免疫調節剤は、CRBNのタンパク質発現または遺伝子発現を上方調節する。いくつかの局面において、CRBNはCRL4^{CRBN} E3ユビキチンリガーゼの基質アダプターであり、該酵素の特異性を調節する。いくつかの態様において、CRBまたはCRBN E3ユビキチンリガーゼ複合体に対する結合によりE3ユビキチンリガーゼ活性が阻害される。いくつかの態様において、該免疫調節剤はIKZF1（Ikaros）およびIKZF3（Aiolos）のユビキチン化を誘導する、および/またはIKZF1（Ikaros）およびIKZF3（Aiolos）分解を誘導する。いくつかの態様において、該免疫調節剤は、CRL4^{CRBN} E3ユビキチンリガーゼによるカゼインキナーゼ1A1（CK1 α ）のユビキチン化を誘導する。いくつかの態様において、CK1 α のユビキチン化によりCK1 α の分解がもたらされる。

【0617】

いくつかの態様において、該追加の薬剤はIkaros（IKZF1）転写因子の阻害剤である。いくつかの態様において、該追加の薬剤はIkarosのユビキチン化を増強する。いくつかの態様において、該追加の薬剤はIkarosの分解を増強する。いくつかの態様において、該追加の薬剤はIkarosのタンパク質発現または遺伝子発現を下方調節する。いくつかの態様において、該追加の薬剤の投与によりIkarosタンパク質レベルの低下が引き起こされる。

【0618】

いくつかの態様において、該追加の薬剤はAiolos（IKZF3）転写因子の阻害剤である。いくつかの態様において、該追加の薬剤はAiolosのユビキチン化を増強する。いくつかの態様において、該追加の薬剤はAiolosの分解を増強する。いくつかの態様において、該追加の薬剤はAiolosのタンパク質発現または遺伝子発現を下方調節する。いくつかの態様において、該追加の薬剤の投与によりAiolosタンパク質レベルの低下が引き起こされる。

【0619】

いくつかの態様において、該追加の薬剤はIkaros（IKZF1）転写因子およびAiolos（IKZF3）転写因子の両方の阻害剤である。いくつかの態様において、該追加の薬剤はIkarosとAiolosの両方のユビキチン化を増強する。いくつかの態様において、該追加の薬剤はIkarosとAiolosの両方の分解を増強する。いくつかの態様において、該追加の薬剤はIkarosとAiolosの両方のユビキチン化および分解を増強する。いくつかの態様において、該追加の薬剤の投与によりAiolosタンパク質レベルおよびIkarosタンパク質レベルの両方の低下が引き起こされる。

【0620】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は選択的サイトカイン阻害薬（SelCID）である。いくつかの態様において、該追加の薬剤はホスホジエステラーゼ-4（PDE4）の活性を阻害する。いくつかの態様において、該追加の薬剤はCDC25ホスファターゼの酵素活性を抑制する。いくつかの態様において、該追加の薬剤はCDC25ホスファターゼの細胞内輸送を改変する。

【0621】

いくつかの態様において、該追加の薬剤はサリドマイド（2-（2,6-ジオキソピペリジン-

10

20

30

40

50

3-イル)-1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオン)またはサリドマイドのアナログもしくは誘導体である。一部の特定の態様において、サリドマイド誘導体としては、類似した生物学的活性を有するサリドマイドの構造的バリエーションが挙げられる。例示的なサリドマイド誘導体としては、非限定的に、レナリドミド(REVLIMMUNOMODULATORY COMPOUND(商標); Celgene Corporation)、ポマリドミド(ACTIMMUNOMODULATORY COMPOUND(商標)またはPOMALYST(商標)(Celgene Corporation)としても公知)、CC-1088、CDC-501およびCDC-801、ならびに米国特許第5,712,291号;同第7,320,991号;および同第8,716,315号;米国特許出願公開第2016/0313300号;ならびにPCT国際特許出願公開WO2002/068414号および同WO2008/154252号に開示されている化合物が挙げられる。

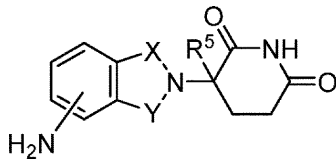
10

【0622】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5,635,517号に記載の、ベンゾ環内にアミノ置換を有する1-オキソ-および1,3ジオキソ-2-(2,6-ジオキソパイパーリジン(piperidin)-3-イル)イソインドリンである。

【0623】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は、下記の式:



20

式中、XとYのうち一方は-C(O)-であり、XとYのうち他方は-C(O)-または-CH₂-であり、R⁵は水素または低級アルキルである

の化合物またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様において、Xは-C(O)-であり、Yは-CH₂-である。いくつかの態様において、XおよびYはともに-C(O)-である。いくつかの態様において、R⁵は水素である。他の態様において、R⁵はメチルである。

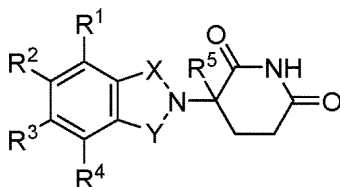
【0624】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は、置換2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)フタレート系免疫調節性化合物および置換2-(2,6-ジオキソパイパーリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリンの分類に属する化合物、例えば、各々、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第6,281,230号、同第6,316,471号、同第6,335,349号、および同第6,476,052号、ならびに国際特許出願PCT/US97/13375号(国際特許出願公開WO 98/03502号)に記載のものである。

30

【0625】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は、下記の式:



40

式中

XとYのうち一方は-C(O)-であり、XとYのうち他方は-C(O)-または-CH₂-であり;

(1) R¹、R²、R³およびR⁴の各々は独立して、ハロ、1~4個の炭素原子のアルキル、もしくはアルコキシもしくは1~4個の炭素原子であるか、または

(2) R¹、R³、R⁴およびR⁵のうちの1つが-NHR^aであり、R¹、R²、R³およびR⁴のうちの残りのものは水素であり、ここで、R^aは水素もしくは1~8個の炭素原子のアルキルであり;

R⁵は水素または1~8個の炭素原子のアルキル、ベンジルまたはハロである;

ただし、XおよびYが-C(O)-であり、(i) R¹、R²、R³およびR⁴の各々がフルオロで

50

あるか；または (ii) R^1 、 R^2 、 R^3 および R^4 のうちの1つがアミノである場合、 R^5 は水素以外であるものとする；

の化合物またはその薬学的に許容される塩である。

【0626】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は、各々、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第7,091,353号、米国特許出願公開第2003/0045552号および国際特許出願PCT/US01/50401号（国際特許出願公開W002/059106号）に開示されているイソインドール系免疫調節性化合物の分類に属する化合物である。例えば、いくつかの態様において、該追加の薬剤は [2- (2,6-ジオキソ-ピペリジン-3-イル) -1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドル-4-イルメチル]-アミド； (2- (2,6-ジオキソ-ピペリジン-3-イル) -1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドル-4-イルメチル) -カルバミン酸tert-ブチルエステル； 4- (アミノメチル) -2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -イソインドリン-1,3-ジオン； N- (2- (2,6-ジオキソ-ピペリジン-3-イル) -1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドル-4-イルメチル) -アセトアミド； N- { (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) メチル} シクロプロピル-カルボキサミド； 2-クロロ-N- { (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) メチル} アセトアミド； N- (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) -3-ピリジルカルボキサミド； 3- {1-オキソ-4- (ベンジルアミノ) イソインドリン-2-イル} ピペリジン-2,6-ジオン； 2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -4- (ベンジルアミノ) イソインドリン-1,3-ジオン； N- { (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) メチル} プロパンアミド； N- { (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) メチル} -3-ピリジルカルボキサミド； N- { (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) メチル} ヘプタンアミド； N- { (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) メチル} -2-フリルカルボキサミド； {N- (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) カルバモイル} メチルアセテート； N- (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) ペンタンアミド； N- (2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル) -2-チエニルカルボキサミド； N- { [2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル] メチル} (ブチルアミノ) カルボキサミド； N- { [2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル] メチル} (オクチルアミノ) カルボキサミド； または N- { [2- (2,6-ジオキソ (3-ピペリジル)) -1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル] メチル} (ベンジルアミノ) カルボキサミドである。

【0627】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は、各々、参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開第2002/0045643号、国際特許出願公開W098/54170号および米国特許第6,395,754号に開示されているイソインドール系免疫調節性化合物の分類に属する化合物である。いくつかの態様において、該追加の薬剤は、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5,798,368号に記載の四置換型2- (2,6-ジオキソピペリジン (piperidin) -3-イル) -1-オキソイソインドリンである。いくつかの態様において、該追加の薬剤は、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第6,403,613号に開示されている1-オキソおよび1,3-ジオキソ-2- (2,6-ジオキソピペリジン-3-イル) イソインドリンである。いくつかの態様において、該追加の薬剤は、ともに参照により本明細書に組み入れられる米国特許第6,380,239号および米国特許第7,244,759号に記載の、インドリン環の4位または5位が置換されている1-オキソまたは1,3-ジオキソイソインドリンである。

【0628】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は、2- (4-アミノ-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドル-2-イル) -4-カルバモイル-酪酸または4- (4-アミノ-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドル-2-イル) -4-カルバモイル-酪酸である。いくつかの態様において、該免疫調節性化合物は4-カルバモイル-4- {4- [(フラン-2-イル-メチル) -アミノ] -1,3-ジオキソ-1,3-

10

20

30

40

50

ジヒドロ-イソインドル-2-イル}-酪酸、4-カルバモイル-2-{4-[(フラン-2-イル-メチル) -アミノ]-1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドル-2-イル}-酪酸、2-{4-[(フラン-2-イル-メチル) -アミノ]-1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドル-2-イル}-4-フェニルカルバモイル-酪酸または2-{4-[(フラン-2-イル-メチル) -アミノ]-1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドル-2-イル}-ペンタン二酸である。

【0629】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第6,458,810号に記載の、2位が2,6-ジオキソ-3-ヒドロキシピペリジン-5-イルで置換されているイソインドリン-1-オンまたはイソインドリン-1,3-ジオンである。いくつかの態様において、該免疫調節性化合物は3-(5-アミノ-2-メチル-4-オキソ-4H-キナゾリン-3-イル)-ピペリジン-2,6-ジオンまたはそのエナンチオマーもしくはエナンチオマー混合物；あるいはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、クラスレートまたは多形体である。いくつかの態様において、該免疫調節性化合物は3-[4-(4-モルホリン-4-イルメチル-ベンジルオキシ)-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドル-2-イル]-ピペリジン-2,6-ジオンである。

【0630】

いくつかの態様において、該追加の薬剤は、Oshima, K. et al., *Nihon Rinsho.*, 72 (6):1130-5 (2014); Millrine, D. et al., *Trends Mol Med.*, 23 (4):348-364 (2017); および Collins, et al., *Biochem J.*, 474 (7):1127-1147 (2017)に記載のものである。

【0631】

いくつかの態様において、該追加の薬剤としては、薬物サリドマイドまたはそのアナログおよび/またはその誘導体、例えばレナリドミド、ポマリドミドまたはアプレミラストが挙げられる。例えば Bertilaccio et al., *Blood* (2013) 122:4171, Otahal et al., *Oncoimmunology* (2016) 5 (4):e1115940; Fecteau et al., *Blood* (2014) 124 (10):1637-1644 および Kuramitsu et al., *Cancer Gene Therapy* (2015) 22:487-495)を参照のこと。レナリドミド((RS)-3-(4-アミノ-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-2H-イソインドル-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン；また、レブラミドとしても公知)はサリドマイドの合成誘導体であり、複数の免疫調節効果、例えばT細胞と抗原提示細胞(APC)間の免疫シナプス形成の実行を有する。いくつかの態様において、該追加の薬剤はレナリドミド、ポマリドミド、アバドミド、レナリドミド、ポマリドミド、アバドミドの立体異性体またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、クラスレートもしくは多形体である。いくつかの態様において、該免疫調節性化合物はレナリドミド、レナリドミドの立体異性体またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、クラスレートもしくは多形体である。いくつかの態様において、該免疫調節性化合物はレナリドミドまたは((RS)-3-(4-アミノ-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-2H-イソインドル-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン)である。

【0632】

一部の特定の態様において、病変部は、サリドマイド誘導体であるレナリドミド((RS)-3-(4-アミノ-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-2H-イソインドル-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン)を対象に投与することにより破壊される。レナリドミドは、多発性骨髄腫、5q欠失と関連している骨髄異形成症候群の治療、および直近では再発/難治性マントル細胞リンパ腫(MCL)における治療に対してFDAの承認を受けている。レナリドミドは一般的にサリドマイドの合成誘導体であり、現在では、複数の免疫調節効果、例えばT細胞と抗原提示細胞(APC)間の免疫シナプス形成の実行を有すると理解されている。例えば、いくつかの場合において、レナリドミドはT細胞応答を調節し、CD4⁺およびCD8⁺T細胞におけるインターロイキン(IL)-2産生の増大をもたらし、Th2からTh1へのTヘルパー(Th)応答のシフトを誘導し、制御性T細胞(Treg)サブセットの拡大増殖を阻害し、濾胞性リンパ腫および慢性リンパ球性白血病(CLL)における免疫学的シナプスの機能発揮を改善する(Otahal et al., *Oncoimmunology* (2016) 5 (4):e1115940)。また、レナリドミドは、多発性骨髄腫(MM)を有する患者において直接的殺腫瘍活性を有し、リンパ系組織

の微小環境にみられる支持細胞、例えばナース様細胞に影響を及ぼすことによってCLL腫瘍細胞の生存を直接および間接的に調節する。また、レナリドミドは、CD3ライゲーションによるT細胞の活性化または樹状細胞媒介性活性化に応答してT細胞増殖およびインターフェロン- γ 産生を向上させ得る。また、レナリドミドは、炎症促進性サイトカイン、例えばTNF- α 、IL-1、IL-6およびIL-12の増殖を低減させ、NK細胞の活性化の増大による抗体依存性細胞傷害性（ADCC）を向上させると考えられている。また、レナリドミドは、悪性B細胞が高レベルの免疫賦活分子、例えばCD80、CD86、HLA-DR、CD95およびCD40を発現することを誘導し得る（Fecteau et al., Blood (2014) 124 (10):1637-1644）。E3ユビキチンリガーゼであるセレブロンはサリドマイド誘導性催奇形成の主要な標的であると同定された（Ito et al., T., (2010) Science 327:1345-1350）。また、レナリドミドはセレブロンを標的とし、これによりc-MycおよびIRF4の発現の低減がもたらされると共に細胞周期のG1期停止をもたらすp21の発現も増大することが示されている（Lopez-Girona et al., (2012) Leukemia 26:2326-2335）。

【0633】

いくつかの態様において、追加の薬剤はB細胞阻害剤である。いくつかの態様において、追加の薬剤は、CD10、CD19、CD20、CD22、CD34、CD123、CD79a、CD79b、CD179b、FLT-3もしくはROR1の阻害剤またはその組合せの中から選択される1つまたは複数のB細胞阻害剤である。いくつかの態様において、B細胞阻害剤は抗体（例えば、単一特異性もしくは二重特異性抗体）またはその抗原結合断片である。いくつかの態様において、追加の薬剤は、B細胞標的、例えば、CD10、CD19、CD20、CD22、CD34、CD123、CD79a、CD79b、CD179b、FLT-3またはROR1を標的とする組換え受容体を発現する改変細胞である。

【0634】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、CD20阻害剤、例えば抗CD20抗体（例えば抗CD20単一特異性もしくは二重特異性抗体）またはその断片である。例示的な抗CD20抗体としては、限定するわけではないが、リツキシマブ、オファツムマブ、オクレリズマブ（GA101またはRO5072759としても知られる）、ペルツズマブ、オビヌツズマブ、TRU-015（Trubion Pharmaceuticals）、オカラツズマブ（ocaratuズマブ）（AME-133vまたはオカラツズマブとしても知られる）およびPro131921（Genentech）が挙げられる。例えば、Lim et al., Haematologica. (2010) 95 (1): 135-43を参照のこと。いくつかの態様において、抗CD20抗体はリツキシマブを含む。リツキシマブは、CD20に結合してCD20発現細胞の細胞溶解を引き起こすキメラマウス/ヒトモノクローナル抗体IgG1 κ である。いくつかの態様において、追加の薬剤はリツキシマブを含む。いくつかの態様において、CD20阻害剤は低分子である。

【0635】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、CD22阻害剤、例えば抗CD22抗体（例えば抗CD22単一特異性もしくは二重特異性抗体）またはその断片である。例示的な抗CD22抗体としてはエブラツズマブおよびRFB4が挙げられる。いくつかの態様において、CD22阻害剤は低分子である。いくつかの態様において、抗体は、任意で第2の薬剤、例えば化学療法剤にコンジュゲートさせた単一特異性抗体である。例えば、いくつかの態様において、抗体は抗CD22モノクローナル抗体-MMAEコンジュゲート（例えば、DCDT2980S）である。いくつかの態様において、抗体は抗CD22抗体のscFv、例えば抗体RFB4のscFvである。いくつかの態様において、scFvは、シュードモナス外毒素-A（例えば、BL22）の全部またはその断片と融合される。いくつかの態様において、scFvは、シュードモナス外毒素-A（例えば、モキセツモマブ パストトクス）の全部またはその断片（例えば、38 kDa断片）と融合される。いくつかの態様において、抗CD22抗体は、任意で毒素にコンジュゲートさせた抗CD19/CD22二重特異性抗体である。例えば、いくつかの態様において、抗CD22抗体は、任意でジフテリア毒素（DT）の全部または一部分、例えばジフテリア毒素（DT）の最初の389個のアミノ酸DT 390、例えばDT2219ARLなどのリガンド指向性毒素）に連結させた抗CD19/CD22二重特異性部分（例えば、ヒトCD19およびCD22を認

識する2つのscFvリガンド)を含む。いくつかの態様において、二重特異性部分(例えば、抗CD 19/抗CD22)を毒素、例えば脱グリコシル化リシンA鎖に連結させる(例えば、Combotox)。

【0636】

いくつかの態様において、免疫調節剤はサイトカインである。いくつかの態様において、免疫調節剤は、サイトカインであるか、または腫瘍微小環境におけるサイトカインの高発現を誘導する薬剤である。サイトカインは、T細胞の拡大増殖、分化、生存および恒常性に関する重要な機能を有する。本明細書において提供される、結合分子(例えば、ROR-1結合分子)、組換え受容体、細胞、および/または組成物を受けている対象に投与され得るサイトカインとしては、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-18およびIL-21のうちの1つまたは複数が挙げられる。いくつかの態様において、投与されるサイトカインは、IL-7、IL-15もしくはIL-21またはその組合せである。いくつかの態様において、改変細胞(例えば、CAR発現細胞)の投与に対して最適以下の応答性を有する対象へのサイトカインの投与により、投与される細胞(例えば、CAR発現細胞)の有効性および/または抗腫瘍活性)が改善され得る。

【0637】

「サイトカイン」は、例えば、別の細胞に対して細胞間メディエータとして作用する、ある細胞集団によって放出されるタンパク質の一般名を意味する。そのようなサイトカインの例は、リンホカイン、モノカインおよび従来のポリペプチドホルモンである。挙げられるサイトカインには、成長ホルモン、例えばヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモンおよびウシ成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；サイロキシン；インスリン；プロインスリン；リラキシン；プロリラキシン；糖タンパク質ホルモン、例えば卵胞刺激ホルモン(FSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、および黄体形成ホルモン(LH)；肝細胞(hepatic)増殖因子；線維芽細胞増殖因子；プロラクチン；胎盤性ラクトゲン；腫瘍壊死因子- α および- β ；ミューラー管抑制因子；マウスゴナドトロピン関連ペプチド；インヒビン；アクチビン；血管内皮成長因子；インテグリン；トロンボポエチン(TPO)；神経成長因子、例えばNGF- β ；血小板-増殖因子；トランスフォーミング増殖因子(TGF)、例えばTGF- α およびTGF- β ；インスリン様増殖因子-Iおよび-II；エリスロポエチン(EPO)；骨誘導因子；インターフェロン、例えばインターフェロン- α 、 β 、および- γ ；コロニー刺激因子(CSF)、例えばマクロファージ-CSF(M-CSF)；顆粒球-マクロファージ-CSF(GM-CSF)；および顆粒球-CSF(G-CSF)；インターロイキン(IL)、例えばIL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12；IL-15、腫瘍壊死因子、例えばTNF- α またはTNF- β ；ならびに他のポリペプチド因子、例えばLIFおよびkitリガンド(KL)がある。本明細書において使用する場合、サイトカインという用語は、天然の供給源に由来するタンパク質または組換え細胞培養物に由来するタンパク質、および天然配列のサイトカインの生物学的に活性な等価物を含む。例えば、当該免疫調節剤はサイトカインであり、サイトカインはIL-4、TNF- α 、GM-CSFまたはIL-2である。

【0638】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、インターロイキン-15(IL-15)ポリペプチド、インターロイキン-15受容体 α (IL-15R α)ポリペプチドまたはその組合せ、例えばhetIL-15(Admune Therapeutics, LLC)を含む。hetIL-15はIL-15とIL-15R α のヘテロ二量体型非共有結合性複合体である。hetIL-15は、例えば、U.S.8,124,084、U.S.2012/0177598、U.S.2009/0082299、U.S.2012/0141413およびU.S.2011/0081311に記載されている。いくつかの態様において、免疫調節剤は1つまたは複数のサイトカインを含み得る。例えば、インターロイキンは、天然のサイトカインの組合せである白血球インターロイキン注射(Multikine)を含み得る。いくつかの態様において、免疫調節剤はToll様受容体(TLR)アゴニスト、アジュバントまたはサイトカインである。

【0639】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、細胞療法と関連している1つまたは複数の毒

性または副作用を寛解させるか、あるいは中和する薬剤である。いくつかの態様において、追加の薬剤は、ステロイド（例えば、コルチコステロイド）、TNF α の阻害剤およびIL-6の阻害剤の中から選択される。TNF α 阻害剤の一例は抗TNF α 抗体分子、例えばインフリキシマブ、アダリムマブ、セルトリズマブベゴルおよびゴリムマブである。TNF α 阻害剤の別の例は融合タンパク質、例えばエタネルセプトである。TNF α の小分子阻害剤としては、限定するわけではないが、キサンチン誘導体（例えばペントキシフィリン）およびブプロピオンが挙げられる。IL-6阻害剤の一例は抗IL-6抗体分子、例えばトシリズマブ、サリルマブ、エルシリモマブ、CNTO 328、ALD518/BMS-945429、CNTO 136、CPS I-2364、CDP6038、VX30、ARGX-109、FE301およびFM101である。いくつかの態様において、抗IL-6抗体分子はトシリズマブである。いくつかの態様において、追加の薬剤はIL-1R阻害剤、例えばアナキンラである。

10

【0640】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、アデノシンレベルおよび/またはアデノシン経路の構成要素のモジュレーターである。アデノシンは体内で免疫調節剤として機能し得る。例えば、アデノシンおよびアデノシン受容体サブタイプを非選択的に活性化させるいくつかのアデノシンアナログは、炎症性酸化生成物の好中球生成を低減する（Cronstein et al., Ann. N. Y. Acad. Sci. 451:291, 1985; Roberts et al., Biochem.J., 227:669, 1985; Schrier et al., J. Immunol. 137:3284, 1986; Cronstein et al., Clinical Immunol. Immunopath. 42:76, 1987）。いくつかの場合において、細胞外アデノシンまたはアデノシンアナログの濃度は特定の環境、例えば腫瘍微小環境（TME）において高まり得る。いくつかの場合において、アデノシンまたはアデノシンアナログのシグナル伝達は、低酸素症または低酸素症もしくはその調節に関与する因子、例えば低酸素誘導因子（HIF）に依存する。いくつかの態様において、アデノシンシグナル伝達の増大により、炎症促進性サイトカイン産生の阻害をもたらす細胞内cAMPおよびcAMP依存性プロテインキナーゼが増加し得、免疫抑制分子の合成およびTregの発生がもたらされ得る（Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2 (7): 598-605）。いくつかの態様において、追加の薬剤は、アデノシン、アデノシンアナログ、および/またはアデノシンシグナル伝達の免疫抑制効果を低減または逆転させ得る。いくつかの態様において、追加の薬剤は、低酸素駆動性A2-アデノシン作動性T細胞免疫抑制を低減または逆転させ得る。いくつかの態様において、追加の薬剤は、アデノシン受容体のアンタゴニスト、細胞外アデノシン分解剤、CD39/CD73外酵素によるアデノシン生成の阻害剤および低酸素-HIF-1 α シグナル伝達の阻害剤の中から選択される。いくつかの態様において、追加の薬剤はアデノシン受容体のアンタゴニストまたはアゴニストである。

20

30

【0641】

細胞外アデノシンの阻害剤（例えば、細胞外アデノシンの形成を抑制する、細胞外アデノシンを分解する、細胞外アデノシンを不活性にする、および/または細胞外アデノシンを減少させる薬剤）および/またはアデノシン受容体阻害剤（例えばアデノシン受容体アンタゴニスト）の長所による細胞外アデノシンまたはアデノシン受容体の阻害または低減により、免疫応答、例えばマクロファージ、好中球、顆粒球、樹状細胞、T-および/またはB細胞媒介性応答が増強され得る。加えて、Gsタンパク質媒介性cAMP依存性細胞内経路の阻害剤およびアデノシン受容体誘発性Giタンパク質媒介性細胞内経路の阻害剤もまた、急性および慢性炎症を増大させ得る。

40

【0642】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、アデノシン受容体のアンタゴニストまたはアゴニスト、例えば、アデノシン受容体A2a、A2b、A1およびA3のうちの1つまたは複数のアンタゴニストまたはアゴニストである。A1とA3およびA2aとA2bは、それぞれ、アデニル酸シクラーゼ活性を阻害および刺激する。一部の特定のアデノシン受容体、例えばA2a、A2bおよびA3は炎症時の免疫応答を抑制または低減し得る。したがって、免疫抑制アデノシン受容体に拮抗することにより、免疫応答、例えば、投与される細胞、例えばCAR発現T細胞による免疫応答が増大、増進または増強され得る。いくつかの態様において、

50

追加の薬剤は、細胞外アデノシンの生成およびアデノシン受容体を介するアデノシン誘発性シグナル伝達を阻害する。例えば、免疫応答の増強、局所組織炎症および標的組織の崩壊が、アデノシンによりもたらされる局所組織低酸素を抑制もしくは低減させることにより；蓄積された細胞外アデノシンを分解（もしくは不活性に）することにより；免疫細胞上のアデノシン受容体の発現を抑制もしくは減少させることにより；および/またはアデノシン受容体介するアデノシンリガンドによるシグナル伝達を阻害/拮抗することにより増強され得る。

【0643】

アンタゴニストは、生物学的応答を誘発することなく、細胞受容体に結合する薬剤として、他の作用を無効にする傾向がある、任意の物質である。いくつかの態様において、アンタゴニストは、アデノシン受容体、例えばA2a、A2bまたはA3受容体のアンタゴニストである化学物質化合物である。いくつかの態様において、アンタゴニストは、アデノシン受容体に結合するがGiタンパク質依存性細胞内経路を誘発しないペプチドまたはペプチド模倣物である。例示的なアンタゴニストは、米国特許第5,565,566号；同第5,545,627、5,981,524号；同第5,861,405号；同第6,066,642号；同第6,326,390号；同第5,670,501号；同第6,117,998号；同第6,232,297号；同第5,786,360号；同第5,424,297号；同第6,313,131号、同第5,504,090号；および同第6,322,771号に記載されている。

【0644】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、A2受容体（A2R）アンタゴニスト、例えばA2aアンタゴニストである。例示的なA2Rアンタゴニストとしては、KW6002（イストラデフィリン）、SCH58261、カフェイン、パラキサンチン、3,7-ジメチル-1-プロパルギルキサンチン（DMPX）、8-（m-クロロステリル）カフェイン（CSC）、MSX-2、MSX-3、MSX-4、CGS-15943、ZM-241385、SCH-442416、プレラデナント、ピパデナント（BII014）、V2006、ST-1535、SYN-115、PSB-1115、ZM241365、FSPTP、およびA2R発現を標的とする阻害性核酸、例えばsiRNAもしくはshRNA、またはA2Rを標的とするいずれかの抗体もしくはその抗原結合断片が挙げられる。いくつかの態様において、追加の薬剤は、例えば、Ohta et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103:13132-13137；Jin et al., Cancer Res. (2010) 70 (6): 2245-2255；Leone et al., Computational and Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272；Beavis et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2013) 110:14711-14716；およびPinna, A., Expert Opin Investig Drugs (2009) 18:1619-1631；Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2 (7): 598-605；US 8,080,554；US 8,716,301；US 20140056922；WO2008/147482；US 8,883,500；US 20140377240；WO02/055083；US 7,141,575；US 7,405,219；US 8,883,500；US 8,450,329およびUS 8,987,279）に記載されたA2Rアンタゴニストである。

【0645】

いくつかの態様において、アンタゴニストは、アデノシン受容体をコードするmRNAに特異的に結合するアンチセンス分子、阻害性核酸分子（例えば、低分子阻害性RNA（siRNA））または触媒性核酸分子（例えば、リボザイム）である。いくつかの態様において、アンチセンス分子、阻害性核酸分子または触媒性核酸分子は、A2a、A2b、またはA3をコードする核酸に結合する。いくつかの態様において、アンチセンス分子、阻害性核酸分子、または触媒性核酸は、アデノシン受容体の下流の生化学的経路を標的とする。例えば、アンチセンス分子または触媒性核酸は、Gsタンパク質依存性細胞内経路またはGiタンパク質依存性細胞内経路に関与する酵素を阻害し得る。いくつかの態様において、追加の薬剤は、アデノシン受容体、例えばA2a、A2bまたはA3のドミナントネガティブ変異型形態を含む。

【0646】

いくつかの態様において、細胞外アデノシンを阻害する追加の薬剤としては、細胞外アデノシンを非機能性にする（またはそのような機能を低下させる）薬剤、例えば、アデノ

10

20

30

40

50

シンの構造を、アデノシンがアデノシン受容体を介してシグナル伝達する能力が阻害されるように修飾する物質が挙げられる。いくつかの態様において、追加の薬剤は、細胞外アデノシン生成酵素もしくはアデノシン分解酵素、その改変形態またはそのモジュレーターである。例えば、いくつかの態様において、追加の薬剤は、アデノシンに選択的に結合して破壊し、それにより、内因的に形成されたアデノシンがアデノシン受容体を介してシグナル伝達し、炎症を終結させる能力を無効にするか、または有意に低下させる酵素（例えば、アデノシンデアミナーゼ）または別の触媒性分子である。

【0647】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、アデノシンデアミナーゼ（ADA）またはその改変形態、例えば、細胞外アデノシンの局所組織蓄積を阻害し得る、組換えADAおよび/またはポリエチレングリコール修飾ADA（ADA-PEG）である。ADA-PEGは、ADA SCIDを有する患者の処置に使用されている（Hershfield (1995) Hum Mutat.5:107）。いくつかの態様において、細胞外アデノシンを阻害する薬剤としては、細胞外アデノシンの形成を抑制もしくは低減し、かつ/または細胞外アデノシンの蓄積を抑制もしくは低減し、それによりアデノシンの免疫抑制効果を無効にするか、または実質的に低減する薬剤が挙げられる。いくつかの態様において、追加の薬剤は、炎症促進性分子の合成および/または分泌の調節に関与する酵素およびタンパク質、例えば核内転写因子のモジュレーターを特異的に阻害する。アデノシン受容体発現あるいはGsタンパク質依存性細胞内経路もしくはGiタンパク質依存性細胞内経路またはcAMP依存性細胞内経路の抑制により、免疫応答の亢進/増強がもたらされ得る。

【0648】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、細胞外アデノシンを生成または産生する外酵素を標的とし得る。いくつかの態様において、追加の薬剤は、細胞外アデノシン生成させるためにタンデムに機能するCD39およびCD73外酵素を標的とする。CD39（エクトヌクレオシド三リン酸ジホスホヒドロラーゼとも称される）は細胞外ATP（またはADP）を5'AMPに変換させる。続いて、CD73（5'ヌクレオチダーゼとも称される）が5'AMPをアデノシンに変換させる。CD39の活性はNDPキナーゼおよびアデニル酸キナーゼの作用によって可逆的であるがCD73の活性は不可逆的である。CD39およびCD73は、腫瘍間質細胞、例えば内皮細胞およびTreg上、また、多くのがん細胞上にも発現される。例えば、内皮細胞上のCD39およびCD73の発現は腫瘍微小環境の低酸素条件下において高い。腫瘍低酸素は、不十分な血液供給および無秩序な腫瘍血管系、酸素送達の障害に起因し得る（Carroll and Ashcroft (2005), Expert. Rev. Mol. Med. 7 (6): 1-16）。また、低酸素により、アデノシンをAMPに変換するアデニル酸キナーゼ（AK）が阻害され、非常に高い細胞外アデノシン濃度がもたらされる。したがって、低酸素に応答してアデノシンが高濃度で放出され、これは、固形腫瘍内または固形腫瘍周囲の腫瘍微小環境（TME）内で高頻度にかかる状態である。いくつかの態様において、追加の薬剤は、抗CD39抗体もしくはその抗原結合断片、抗CD73抗体もしくはその抗原結合断片、例えばMEDI9447またはTY/23、 α - β -メチレン-アデノシン三リン酸（ADP）、ARL 67156、POM-3、IPH52のうちの1つまたは複数である（例えば、Allard et al., Clin Cancer Res (2013) 19 (20): 5626-5635; Hausler et al., Am J Transl Res (2014) 6 (2): 129-139; Zhang, B., Cancer Res. (2010) 70 (16): 6407-6411参照）。

【0649】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、低酸素誘導因子1 α （HIF-1 α ）シグナル伝達の阻害剤である。HIF-1 α の例示的な阻害剤としては、ジゴキシン、アクリフラビン、サーチュイン-7およびガネテスピブが挙げられる。

【0650】

いくつかの態様において、追加の薬剤としては、プロテインチロシンホスファターゼ阻害剤、例えば本明細書に記載されるプロテインチロシンホスファターゼ阻害剤が挙げられる。いくつかの態様において、プロテインチロシンホスファターゼ阻害剤はSHP-1阻害剤、例えば本明細書に記載されるSHP-1阻害剤、例えばスチボグルコン酸ナトリウムなどで

ある。いくつかの態様において、プロテインチロシンホスファターゼ阻害剤はSHP-2阻害剤、例えば本明細書に記載されるSHP-2阻害剤である。

【0651】

いくつかの態様において、追加の薬剤はキナーゼ阻害剤である。キナーゼ阻害剤、例えばCDK4キナーゼ阻害剤、BTKキナーゼ阻害剤、MNKキナーゼ阻害剤またはDGKキナーゼ阻害剤は、腫瘍細胞に存在する構成的に活性な生存経路を調節し得る、および/または免疫細胞の機能を調節し得る。いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤はブルトン型チロシンキナーゼ（BTK）阻害剤、例えばイブルチニブである。いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤はホスファチジルイノシトール-4,5-ビスリン酸3-キナーゼ（PI3K）阻害剤である。いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤はCDK4阻害剤、例えばCDK4/6阻害剤である。いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤はmTOR阻害剤、例えばラパマイシン、ラパマイシンアナログOSI-027などである。mTOR阻害剤は、例えばmTORC1阻害剤および/またはmTORC2阻害剤、例えばmTORC1阻害剤および/またはmTORC2阻害剤であり得る。いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤はMNK阻害剤または二重PI3K/mTOR阻害剤である。いくつかの態様において、他の例示的キナーゼ阻害剤としては、AKT阻害剤ペリホシン、mTOR阻害剤テムシロリムス、Srcキナーゼ阻害剤ダサチニブおよびホスタマチニブ、JAK2阻害剤パクリチニブおよびルキシソリチニブ、PKC β 阻害剤エンザスタウリンおよびブリオスタチン、ならびにAAK阻害剤アリセルチブが挙げられる。

10

【0652】

いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤は、イブルチニブ（PCI-32765）；GDC-0834；RN-486；CGI-560；CGI-1764；HM-71224；CC-292；ONO-4059；CNX-774；およびLFM-A13から選択されるBTK阻害剤である。いくつかの態様において、BTK阻害剤は、インターロイキン-2誘導性キナーゼ（ITK）のキナーゼ活性を低減または阻害せず、GDC-0834；RN-486；CGI-560；CGI-1764；HM-71224；CC-292；ONO-4059；CNX-774；およびLFM-A13から選択される。

20

【0653】

いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤はBTK阻害剤、例えばイブルチニブ（1-[(3R)-3-[4-アミノ-3-(4-フェノキシフェニル)-1H-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン-1-イル]ピペリジン-1-イル]プロプ-2-エン-1-オン；PCI-32765としても知られる）である。いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤は、BTK阻害剤、例えばイブルチニブ（PCI-32765）である。いくつかの態様において、イブルチニブは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12サイクル、またはそれより多く投与される。いくつかの態様において、BTK阻害剤は、国際出願WO 2015/079417に記載されたBTK阻害剤である。

30

【0654】

いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤はPI3K阻害剤である。PI3Kは、細胞周期の調節およびリンパ腫の生存に関与するPI3K/Akt/mTOR経路の中心である。例示的なPI3K阻害剤としてはイデラリシブ（PI3K δ 阻害剤）が挙げられる。いくつかの態様において、追加の薬剤はイデラリシブおよびリツキシマブである。

【0655】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、哺乳類ラパマイシン標的（mTOR）の阻害剤である。いくつかの態様において、キナーゼ阻害剤は、テムシロリムス；リダホロリムス（AP23573およびMK8669としても知られる）；エベロリムス（RAD001）；ラパマイシン（AY22989）；シマピモド（simapimod）；AZD8055；PF04691502；SF1126；およびXL765から選択されるmTOR阻害剤である。いくつかの態様において、追加の薬剤は、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）の阻害剤、例えばベムラフェニブ、ダブラフェニブおよびトラメチニブである。

40

【0656】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、アポトーシス促進性タンパク質または抗アポトーシスタンパク質を調節する薬剤である。いくつかの態様において、追加の薬剤としては、B細胞リンパ腫2（BCL-2）阻害剤（例えば、ベネトクラクス、ABT-199もしくはGD

50

C-0199とも称される；またはABT-737）が挙げられる。ベネトクラクスは、抗アポトーシスタンパク質BCL-2を阻害する低分子（4-（4-[[2-（4-クロロフェニル）-4,4-ジメチル-1-シクロヘキセン-1-イル]メチル]-1-ピペラジニル）-N-（{3-ニトロ-4-[(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イルメチル)アミノ]フェニル}スルホニル）-2-（1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-5-イルオキシ）ベンズアミド）である。アポトーシス促進性タンパク質または抗アポトーシスタンパク質を調節する他の薬剤としては、BCL-2阻害剤ABT-737、ナビトクラクス（navitoclax）（ABT-263）；最大有効性のためのMcl-1 siRNAまたはMcl-1阻害剤レチノイドN-（4-ヒドロキシフェニル）レチナミド（4-HPR）が挙げられる。いくつかの態様において、追加の薬剤は、アポトーシス促進性刺激、例えば、腫瘍細胞表面上のTRAILデスレセプターDR-4およびDR-5に結合することによってアポトーシス経路を活性化し得る組換え腫瘍壊死因子関連アポトーシス誘導リガンド（TRAIL）、またはTRAIL-R2アゴニスト抗体をもたらす。

【0657】

いくつかの態様において、追加の薬剤としてインドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ（IDO）阻害剤が挙げられる。IDOは、アミノ酸L-トリプトファンのキヌレニンへの分解を触媒する酵素である。多くのがん、例えば前立腺癌、結腸直腸癌、膵癌、子宮頸癌、胃癌、卵巣癌、頭部の癌および肺癌がIDOを過剰発現する。形質細胞様樹状細胞（pDC）、マクロファージおよび樹状細胞（DC）もIDOを発現し得る。いくつかの局面において、L-トリプトファンの減少（例えば、IDOによって触媒）により、T細胞のアネルギーおよびアポトーシスが誘導されることによって免疫抑制環境がもたらされる。したがって、いくつかの局面では、IDO阻害剤が、本明細書に記載される結合分子（例えば、ROR-1結合分子）、組換え受容体、細胞、および/または組成物の有効性を、例えば投与されたCAR発現細胞の抑制または死を減じることにより、増強し得る。例示的なIDO阻害剤としては、限定ではないが、1-メチル-トリプトファン、インドキシモドおよびINCB024360（エパカドスタット）が挙げられる。

【0658】

いくつかの態様では、追加剤としては、細胞傷害剤、例えばCPX-351（Celator Pharmaceuticals）、シタラビン、ダウノルビシン、ボサロキシシン（Sunesis Pharmaceuticals）、サパシタビン（Cyclacel Pharmaceuticals）、イダルビシン、またはミトキサントロンが挙げられる。いくつかの態様では、追加剤としては、低メチル化剤、例えばDNAメチルトランスフェラーゼ阻害剤、例えばアザシチジンまたはデシタビンが挙げられる。

【0659】

別の態様では、さらなる治療法は、移植、例えば同種幹細胞移植である。

【0660】

いくつかの態様では、さらなる治療法は、リンパ球除去化学療法である。いくつかの態様では、改変細胞、例えばCAR発現細胞の投与の例えば前に、対象にリンパ球除去が実施される。いくつかの態様では、リンパ球除去は、メルファラン、シトキサン、シクロホスファミド、およびフルダラビンの1つまたは複数を投与することを含む。いくつかの態様では、リンパ球除去化学療法が、改変細胞、例えばCAR発現細胞の投与（例えば注入）の前、同時、または後に、対象に投与される。ある例では、リンパ球除去化学療法は、改変細胞、例えばCAR発現細胞の投与の前に対象に投与される。

【0661】

いくつかの態様において、追加の薬剤は腫瘍溶解性ウイルスである。いくつかの態様において、腫瘍溶解性ウイルスは、がん細胞内で選択的に複製され、がん細胞の死を誘発するか、またはがん細胞の成長を遅滞させることができる。いくつかの場合において、腫瘍溶解性ウイルスは非がん細胞に対して、効果を有しないか、または有する効果が最小限である。腫瘍溶解性ウイルスとしては、限定するわけではないが、腫瘍溶解性アデノウイルス、腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルス、腫瘍溶解性レトロウイルス、腫瘍溶解性パルボウイルス、腫瘍溶解性ワクシニアウイルス、腫瘍溶解性シンビス（Sinbis）ウイルス、腫瘍溶解性インフルエンザウイルス、または腫瘍溶解性RNAウイルス（例えば、腫瘍溶解性レ

10

20

30

40

50

オウウイルス、腫瘍溶解性ニューカッスル病ウイルス（NDV）、腫瘍溶解性麻疹ウイルスもしくは腫瘍溶解性水疱性口内炎ウイルス（VSV）が挙げられる。

【0662】

他の例示的な併用療法、処置、および/または薬剤としては、抗アレルギー剤、制吐剤、鎮痛薬、および補助療法が挙げられる。いくつかの態様において、追加の薬剤としては、細胞保護剤、例えば神経保護物質、フリーラジカスカベンジャー、心臓保護物質、アントラサイクリン系管外遊出中和剤（neutralizer）および栄養物が挙げられる。

【0663】

いくつかの態様において、追加の薬剤として使用される抗体は治療剤に、例えば化学療法剤（例えば、シトキサン、フルダラビン、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、脱メチル化剤、ペプチドワクチン、抗腫瘍抗生物質、チロシンキナーゼ阻害剤、アルキル化剤、微小管阻害剤もしくは有糸分裂阻害剤）、抗アレルギー剤、吐き気止め剤（または制吐剤）、疼痛軽減薬、または本明細書に記載される細胞保護剤にコンジュゲートされるか、または別の様式で結合される。いくつかの態様において、追加の薬剤は抗体-薬物コンジュゲートである。

【0664】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、特定の因子をDNAレベル、RNAレベル、またはタンパク質レベルで調節、阻害、または刺激し、本明細書に記載の結合分子（例えば、ROR-1結合分子）、組換え受容体、細胞、および/または組成物の有効性を向上または増進し得る。いくつかの態様において、追加の薬剤は、投与された細胞、例えば組換え受容体（例えばCAR）を発現するように改変された細胞内の因子を核酸レベル、例えばDNAレベルまたはRNAレベルで調節し得る。いくつかの態様において、阻害性核酸、例えば阻害性核酸、例えばdsRNA、例えばsiRNAもしくはshRNAまたはクラスター化され、規則的に間隔が空いた短い回文構造の繰り返し（clustered regularly interspaced short palindromic repeat）（CRISPR）、転写活性化様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）もしくはジンクフィンガーエンドヌクレアーゼ（ZFN）が、改変細胞（例えばCAR発現細胞）における抑制性分子の発現を阻害するために使用され得る。いくつかの態様において、阻害剤はshRNAである。いくつかの態様において、抑制性分子は、改変細胞、例えばCAR発現細胞において阻害される。いくつかの態様において、T細胞機能を調節または調整する、例えば阻害する分子の発現を阻害するdsRNA分子をコードする核酸分子は、プロモーター、例えばHI-またはU6-由来プロモーターに、該抑制性分子の発現を阻害するdsRNA分子が、改変細胞、例えばCAR発現細胞において発現されるように機能的に連結される。例えば、Brummelkamp TR, et al., (2002) Science 296:550-553 ; Miyagishi M, et al., (2002) Nat. Biotechnol. 19:497-500を参照のこと。

【0665】

いくつかの態様において、追加の薬剤は、抑制性分子（例えば、本明細書に記載される任意の免疫チェックポイント阻害剤）をコードする遺伝子を破壊することができる。いくつかの態様において、破壊は、欠失、例えば遺伝子全体、エキソンもしくは領域の欠失および/または外来配列での置き換えによるもの、および/または遺伝子内、典型的には遺伝子のエキソン内における変異、例えばフレームシフトもしくはミスセンス変異によるものである。いくつかの態様において、破壊により、遺伝子内への未成熟終止コドンの組み込みがもたらされ、そのため抑制性分子は、発現しないか、または細胞表面上に発現することができるような形態および/もしくは細胞シグナル伝達を媒介することができるような形態では発現しない。破壊は典型的にはDNAレベルで行われる。破壊は典型的には永久的であるか、不可逆的であるか、または一過性でない。

【0666】

いくつかの局面において、破壊は、遺伝子編集によって行われ、例えば破壊の標的とされる領域の遺伝子に特異的に結合またはハイブリダイズするDNA結合タンパク質またはDNA結合核酸を用いて行われる。いくつかの局面において、当該タンパク質または核酸は、例えばキメラタンパク質または融合タンパク質の状態で、ヌクレアーゼと結合または複合

10

20

30

40

50

体化される。例えば、いくつかの態様において、破壊は、DNAターゲティングタンパク質とヌクレアーゼ（例えば、ジンクフィンガーエンドヌクレアーゼ（ZFN）もしくはTAL-エフェクターヌクレアーゼ（TALEN））とを含む融合体、または破壊対象遺伝子に特異的なRNA誘導型ヌクレアーゼ、例えばクラスター化され規則的に間隔が空いた短い回文構造の（clustered regularly interspersed short palindromic）核酸（CRISPR）-Cas系（例えばCRISPR-Cas9系）を用いて行われる。いくつかの態様において、遺伝子改変細胞（例えばCAR発現細胞）を作製または生成する方法は、遺伝子改変された抗原受容体（例えばCAR）をコードする核酸分子と、遺伝子編集ヌクレアーゼ、例えば、DNAターゲティングタンパク質とヌクレアーゼ（例えば、ZFNもしくはTALEN）との融合体、または抑制性分子に特異的なRNA誘導型ヌクレアーゼ、例えばCRISPR-Cas9系である、抑制性分子を標的とする作用物質をコードする核酸分子とを、細胞の集団に導入することを含む。

10

【0667】

本明細書に記載の任意の該追加の薬剤は、本明細書に記載のROR1結合分子（例えば、抗体）、イムノコンジュゲート、組換え受容体（例えば、キメラ抗原受容体）および/または前記分子（例えば、組換え受容体）を発現する改変細胞との併用療法薬として、例えば、例えば該併用療法薬の1種類または複数種の薬剤および薬学的に許容される担体、例えば本明細書に記載のいずれかのものを含む薬学的組成物の状態で調製され、投与され得る。いくつかの態様において、ROR1結合分子（例えば、抗体）、イムノコンジュゲート、組換え受容体（例えば、キメラ抗原受容体）、前記分子（例えば、組換え受容体）を発現する改変細胞、前記分子（例えば、組換え受容体）を発現する複数の改変細胞は、該追加の薬剤、治療薬または処置薬と同時に、任意の順序で並行して、または逐次投与され得、このとき、かかる投与は、対象の体内で各薬剤の治療上有効なレベルをもたらす。該薬剤を、本明細書に記載の結合分子（例えば、ROR1結合分子）、組換え受容体、細胞および/または組成物と、例えば同じ薬学的組成物の一部として、または同じ送達方法を用いて共投与してもよい。いくつかの態様において、該追加の薬剤は改変細胞、例えばCAR発現細胞と共に、該細胞の投与の前にインキュベートされる。

20

【0668】

いくつかの例において、該1種類または複数種の追加の薬剤は、本明細書に記載の結合分子（例えば、ROR1結合分子）、組換え受容体、細胞および/または組成物の投与後または投与前に、選択された期間をあけて投与される。いくつかの例において、該期間は1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、3週間、1ヶ月、2ヶ月または3ヶ月である。いくつかの例では、該1種類または複数種の追加の薬剤が複数回投与される、および/または本明細書に記載の結合分子（例えば、ROR1結合分子）、組換え受容体、細胞および/または組成物が複数回投与される。例えば、いくつかの態様において、該追加の薬剤は、本明細書に記載の結合分子（例えば、ROR1結合分子）、組換え受容体、細胞および/または組成物の前に、例えば該投与の2週間前、12日前、10日前、8日前、1週間前、6日前、5日前、4日前、3日前、2日前または1日前に投与される。例えば、いくつかの態様において、該追加の薬剤は、本明細書に記載の結合分子（例えば、ROR1結合分子）、組換え受容体、細胞および/または組成物の後に、例えば該投与の2週間後、12日後、10日後、8日後、1週間後、6日後、5日後、4日後、3日後、2日後または1日後に投与される。

30

40

【0669】

該追加の薬剤の用量は、治療上有効な任意の量、例えば本明細書に記載の任意の用量の量であり得、該追加の薬剤の適切な投与量は、治療対象の疾患の型、投与される結合分子、組換え受容体、細胞および/または組成物の型、用量および/または頻度、疾患の重症度および経過、結合分子、組換え受容体、細胞および/または組成物が予防目的で投与されるのか治療目的で投与されるのか、治療歴、患者の病歴および結合分子、組換え受容体、細胞および/または組成物に対する反応ならびに担当医の裁量に依存し得る。結合分子、組換え受容体、細胞および/または組成物および/または該追加の薬剤および/または治療薬は患者に1回で投与してもよく、反復してもよく、一連の処置で投与してもよい。

【0670】

50

C. 診断方法および検出方法

また、ROR1の検出における、例えばROR1を発現する疾患または病態に関する診断方法および/または予後判定方法における、提供される結合分子（例えば抗体またはその抗原結合断片）の使用を伴う方法が提供される。いくつかの態様における方法は、生物学的試料を該抗体もしくはその抗原結合断片と共にインキュベートすること、および/または該抗体もしくはその抗原結合断片を対象に投与することを含む。一部の特定の態様において、生物学的試料としては、細胞または組織、例えば腫瘍またはがん組織が挙げられる。一部の特定の態様において、該接触は、ROR1に対する抗ROR1抗体の結合および抗ROR1抗体とROR1との複合体が形成されるかどうかの検出を許容する条件下である。かかる方法はインビトロ法であってもインビボ法であってもよい。一態様において、抗ROR1抗体（例えば、抗原結合断片）は、抗ROR1抗体（例えば、抗原結合断片）または組換え受容体での治療、例えばROR1が患者の選択のためのバイオマーカーである治療に適格な対象を選択するために使用される。

【0671】

いくつかの態様において、試料、例えば細胞、組織試料、ライセート、組成物またはこれらに由来する他の試料を抗ROR1抗体（例えば、抗原結合断片）と接触させ、抗体と試料（例えば、試料中のROR1）間の結合または複合体の形成が測定または検出される。同じ組織型の参照細胞と比べて試験試料において結合が示されるか、または検出された場合、これは、関連する疾患または病態の存在を示し得る。いくつかの態様において、試料はヒト組織由来である。

【0672】

抗体-抗原間の特異的結合を検出するための公知の種々の方法が使用され得る。例示的なイムノアッセイとしては、蛍光偏光イムノアッセイ（FPIA）、蛍光イムノアッセイ（FIA）、酵素イムノアッセイ（EIA）、ネフェロメトリー阻害イムノアッセイ（NIA）、酵素結合イムノソルベントアッセイ（ELISA）およびラジオイムノアッセイ（RIA）が挙げられる。インジケータ部分または標識基が主題の抗体に結合され得、アッセイ設備および適合するイムノアッセイ手順の利用可能性によってしばしば決定づけられる該方法の種々の使用のニーズを満たすように選択される。例示的な標識としては、放射性核種（例えば ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、 ^3H もしくは ^{32}P ）、酵素（例えば、アルカリホスファターゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼもしくは β -ガラクトシダーゼ）、蛍光部分または蛍光タンパク質（例えば、フルオレセイン、ローダミン、フィコエリトリン、GFPもしくはBFP）、あるいは発光部分（例えば、Quantum Dot Corporation, Palo Alto, Calif.によって供給されるQdot（商標）ナノ粒子）が挙げられる。上記の種々のイムノアッセイの実施に使用される一般的な手法は当業者に公知である。

【0673】

診断目的のため、抗体（例えば、抗原結合断片）は、検出可能な部分、例えば非限定的に、ラジオアイソトープ、蛍光標識、および当技術分野において公知の種々の酵素-基質標識で標識され得る。標識を抗体にコンジュゲートさせる方法は公知である。

【0674】

いくつかの態様では、抗体（例えば、抗原結合断片）を標識する必要はなく、その存在は、該抗体に結合する標識抗体を用いて検出され得る。

【0675】

いくつかの態様における提供される抗体（例えば、抗原結合断片）は、任意の公知のアッセイ方法、例えば競合結合アッセイ、直接および間接サンドイッチアッセイならびに免疫沈降アッセイにおいて使用され得る。Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp.147-158 (CRC Press, Inc. 1987)。

【0676】

該抗体（例えば、抗原結合断片）およびポリペプチドはまた、インビボ診断アッセイ、例えばインビボイメージングのためにも使用され得る。概して、抗体は放射性核種（例えば、 ^{111}In 、 ^{99}Tc 、 ^{14}C 、 ^{131}I 、 ^{125}I または ^3H ）で、対象への投与後に関心対象の細胞

または組織がインビボで位置特定され得るように標識される。

【0677】

また、該抗体（例えば、抗原結合断片）を病理検査における染色試薬として、例えば公知の手法を用いて使用してもよい。

【0678】

V. 製造物品またはキット

また、提供される結合分子（例えば、抗体）、組換え受容体（例えば、CAR）、遺伝子改変細胞および/またはそれを含む組成物を含む製造物品またはキットが提供される。製造物品は、容器および該容器上面にあるか、あるいは該容器に付随するラベルまたは添付文書を含み得る。適切な容器としては、例えばボトル、バイアル、シリンジ、テストチューブ、IV液バッグなどが挙げられる。容器は、様々な材質、例えばガラスまたはプラスチックで形成され得る。いくつかの態様において、容器は滅菌アクセスポートを有する。例示的な容器としては、静注液バッグ、バイアル、例えば注射針が貫通可能なストッパーを有するものが挙げられる。製造物品またはキットは、組成物が特定の病態、例えば本明細書に記載の病態（例えば、ROR1発現がん）を治療するために使用され得ることを示す添付文書をさらに含んでいてもよい。あるいはまたはさらに、製造物品またはキットは、薬学的に許容される緩衝液を含む別の容器または同じ容器をさらに含んでいてもよい。他の物質、例えば他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針および/またはシリンジをさらに含んでいてもよい。

【0679】

ラベルまたは添付文書には、組成物が、個体のROR1発現疾患、障害、もしくは病態、またはROR1関連疾患、障害、もしくは病態を治療するために使用されることが示され得る。容器上面にあるか、または容器に付随するラベルまたは添付文書には、製剤の再構成および/または使用に関する注意書きが示され得る。ラベルまたは添付文書には、製剤が皮下投与、静脈内投与あるいは個体のROR1発現疾患、障害、もしくは病態、またはROR1関連疾患、障害、もしくは病態を治療もしくは予防するための他の投与様式に有用であるか、あるいは製剤は皮下投与、静脈内投与あるいは個体のROR1発現疾患、障害、もしくは病態、またはROR1関連疾患、障害、もしくは病態を治療もしくは予防するための他の投与様式が意図されることがさらに示され得る。いくつかの局面において、ラベルまたは添付文書は、使用説明書（例えば、いくつかの局面における抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、細胞、または組成物を、本明細書に記載の任意の方法または使用に従って投与するための説明書）を含み得る。

【0680】

いくつかの態様における容器は、単独の組成物あるいは病態の治療、予防および/または診断に有効な別の組成物と合わされた組成物を収容する。製造物品またはキットは、（a）抗体（例えば、抗ROR1抗体）もしくはその抗原結合断片または組換え受容体（例えば、CAR）を含む組成物（すなわち、第1の医薬）を内包する第1の容器；および（b）さらなる薬剤、例えば細胞傷害剤もしくは別の様式の治療用薬剤を含む組成物（すなわち、第2の医薬）を内包する第2の容器を含み得、この製造物品またはキットに、対象を第2の医薬で有効な量にて処置するための使用説明をラベルまたは添付文書でさらに含めてもよい。

【0681】

VI. 定義

本明細書において使用する場合、抗体の「対応する形態」に対する言及は、2つの抗体の特性または活性を比較する際、該特性が同じ形態の抗体を用いて比較されることを意味する。例えば、抗体が第1の抗体の対応する形態の活性と比べてより大きい活性を有すると記載されている場合、これは、該抗体の特定の形態、例えばscFvが第1の該抗体のscFv形態と比べてより大きい活性を有することを意味する。

【0682】

「エフェクター機能」は抗体のFc領域に帰属する生物学的活性を示し、これは抗体のアイソタイプによってさまざまである。抗体エフェクター機能の例としては:C1q結合および

10

20

30

40

50

補体依存性細胞傷害性（CDC）；Fc受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性（ADCC）；食作用；細胞表面受容体（例えばB細胞受容体）の下方調節；ならびにB細胞の活性化が挙げられる。

【0683】

本明細書における「Fc領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部分を含む免疫グロブリン重鎖のC末端の領域を画定するために使用される。この用語は、天然配列のFc領域およびバリエーションFc領域を含む。一態様において、ヒトIgG重鎖Fc領域はCys226またはPro230から重鎖のカルボキシル-末端までに延在する。しかしながら、Fc領域のC末端のリシン（Lys447）は存在する場合もあり得、存在しない場合もあり得る。本明細書において明示していない限り、Fc領域または定常領域のアミノ酸残基のナンバリングは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載される、EUインデックス（EU index）とも称されるEUナンバリングシステムに従う。

10

【0684】

用語「完全長抗体」、「インタクトな抗体」および「完全抗体」は、天然状態の抗体構造と実質的に同様の構造を有する抗体または本明細書において定義するFc領域を含む重鎖を有する抗体を示すために本明細書において互換的に使用している。

【0685】

「単離された」抗体は、その天然の環境の成分から分離されているものである。いくつかの態様において、抗体は、例えば電気泳動法（例えば、SDS-PAGE、等電点（IEF）、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフィー法（例えば、イオン交換もしくは逆相HPLC）による測定時、95%より大きい、または99%より大きい純度まで精製される。抗体純度の評価のための方法の概説については、例えばFlatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)を参照のこと。

20

【0686】

「単離された」核酸は、その天然の環境の成分から分離されている核酸分子を示す。単離された核酸は、通常内包されている細胞内に含まれている核酸分子であって、染色体外またはその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在する核酸分子を含む。

【0687】

「抗ROR-1抗体をコードする単離された核酸」は、抗体の重鎖および軽鎖（またはその断片）をコードする1つまたは複数の核酸分子、例えば、単一のベクターまたは別々のベクター内のかかる核酸分子、および宿主細胞内の1つまたは複数の場所に存在するかかる核酸分子を示す。

30

【0688】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」および「宿主細胞培養物」は互換的に使用しており、内部に外来核酸が導入されている細胞を示し、かかる細胞の子孫を含む。宿主細胞は「形質転換体」および「形質転換細胞」を含み、これらは、初代形質転換細胞および継代の回数に関係なく初代形質転換細胞に由来する子孫を含む。子孫は、核酸含有量が親細胞と完全に同一でない場合もあり得、変異を含む場合もあり得る。もともと形質転換型の細胞におけるスクリーニング時または選択時と同じ機能または生物学的活性を有する変異型子孫は本明細書に含まれる。

40

【0689】

本明細書において使用する場合、「アミノ酸配列同一性パーセント（%）」および「同一性パーセント」および「配列同一性」は、アミノ酸配列（参照ポリペプチド配列）に関して使用する場合、配列をアラインメントし、必要であれば最大限の配列同一性パーセントを得るためにギャップを導入した後の、配列同一性の一部としてのいずれの保存的置換も考慮しない、候補配列（例えば、主題の抗体または断片）内において参照ポリペプチド配列内のアミノ酸残基と同一であるアミノ酸残基の割合（%）と定義する。アミノ酸配列同一性パーセントを求める目的のためのアラインメントは、当技術分野の技能の範囲内の種々の様式で、例えば、公衆に利用可能なコンピュータソフトウェア、例えばBLAST、BLA

50

ST-2、ALIGNまたはMegalign (DNASTAR) ソフトウェアを用いて行われ得る。当業者は、比較する配列の全長にわたって最大限のアラインメントを得るのに必要とされるいずれかのアルゴリズムを含む、配列をアラインメントするための適切なパラメータを決定することができよう。

【0690】

アミノ酸置換としては、ポリペプチドにおけるあるアミノ酸を別のアミノ酸で置き換えることが挙げられ得る。置換は、保存的アミノ酸置換であってもよいし、非保存的アミノ酸置換であってもよい。アミノ酸置換は関心対象の結合分子内、例えば抗体内に導入され得、その産物は所望の活性について、例えば抗原結合の保持/改善、免疫原性の低下、またはADCCもしくはCDCの改善についてスクリーニングされ得る。

10

【0691】

アミノ酸は一般的に、以下の共通する側鎖特性に従ってグループ分けされ得る：

- (1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg；
- (5) 鎖の向きに影響する残基：Gly、Pro；
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

【0692】

いくつかの態様において、保存的置換は、これらの分類のうちの1つのメンバーを同じ分類の別のメンバーで交換することを含み得る。いくつかの態様において、非保存的アミノ酸置換は、これらの分類のうちの1つのメンバーを別の分類のもので交換することを含み得る。

20

【0693】

用語「ベクター」は、本明細書において使用する場合、連結されている別の核酸を増殖させることができる核酸分子を示す。この用語には、自己複製性核酸構造物としてのベクターならびに導入されている宿主細胞のゲノム内に組み込まれるベクターが含まれる。ある種のベクターは、機能的に連結される核酸の発現を指令することができる。かかるベクターは本明細書において「発現ベクター」と称される。

【0694】

用語「添付文書」は、治療製剤品の販売包装に習慣的に含められる、かかる治療製剤品の適応症、用法、用量、投与、併用療法、禁忌および/または使用に関する注意事項に関する情報が含まれた指示書を示すために使用される。

30

【0695】

本明細書において使用する場合、単数形である「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」は、文脈がそうではないことを明確に示す場合を除き、複数形の言及物を包含する。例えば、「1つの(a)」または「1つの(an)」は、「少なくとも1つ」または「1つまたは複数」を意味する。本明細書に記載される局面、態様および変形は、該局面、態様および変形「を含むこと」、「からなること」ならびに/あるいは該局面、態様および変形「から本質的になる」ことを包含することが理解される。

40

【0696】

本開示の全体を通して、本発明の主題の様々な局面が範囲形式で示される。範囲形式での記載は単に便宜および簡潔性のためであり、本発明の主題の範囲に関して柔軟性のない限定として解釈してはならないことを理解しなければならない。したがって、範囲の記載は、可能な部分範囲、同様にまた、その範囲に含まれる個々の数値をすべて具体的に開示しているとは見なされなければならない。例えば、値の範囲が与えられる場合、その範囲の上限と、下限との間におけるそれぞれの中間の値、およびその指定された範囲における任意の他の指定された値または中間の値が、本発明の主題の範囲内に包含されることが理解される。これらのより小さい範囲の上限および下限がこれらのより小さい範囲に独立して含まれてもよく、これらもまた、指定された範囲における任意の具体的に除外された限界

50

点に従うことを条件にして、本発明の主題の範囲内に包含される。指定された範囲が限界点の一方または両方を含む場合、そのような含まれた限界点のどちらかまたは両方を除外する範囲もまた、本発明の主題の範囲内に含まれる。このことは、範囲の広さにかかわらず、当てはまる。

【0697】

本明細書で使用される「約」という用語は、この技術分野における当業者には容易にわかるそれぞれの値についての通常の誤差範囲を示す。「約」を伴う値またはパラメータが本明細書において示される場合、その値またはパラメータそのものに向けられる態様が含まれる（記載される）。例えば、「約X」が示される記載では、「X」の記載が含まれる。

【0698】

本明細書において使用する場合、「組成物」は、細胞を含めて、2つ以上の製造物、物質または化合物の混合物をどのようなものであっても示す。組成物は、溶液、懸濁物、液体、粉末、ペースト、水性、非水性、またはそれらの任意の組合せであり得る。

【0699】

本明細書において使用する場合、細胞または細胞の集団が特定のマーカーについて「陽性」とであると述べられることは、特定のマーカー、典型的には表面マーカーが細胞表面または細胞において検出可能に存在していることを示す。表面マーカーが言及されるとき、この用語は、フローサイトメトリーによって、例えば、マーカーに特異的に結合する抗体を用いて染色し、前記抗体を検出することによって検出されるような表面発現の存在を示し、この場合、染色は、アイソタイプの一致する対照を、それ以外の点では同一の条件のもとで用いる、同じ手順を行って検出される染色を実質的に超えるレベルでフローサイトメトリーによって検出可能である、かつ/またはマーカーについて陽性であることが知られている細胞についてのレベルと実質的に類似するレベルである、かつ/またはマーカーについて陰性であることが知られている細胞についてのレベルよりも実質的に高いレベルである。

【0700】

本明細書において使用する場合、細胞または細胞の集団が特定のマーカーについて「陰性」とであると述べられることは、特定のマーカー、典型的には表面マーカーが細胞表面または細胞において実質的に検出可能に存在していることが認められないことを示す。表面マーカーが言及されるとき、この用語は、フローサイトメトリーによって、例えば、マーカーに特異的に結合する抗体を用いて染色し、前記抗体を検出することによって検出されるような表面発現の非存在を示し、この場合、染色は、アイソタイプの一致する対照を、それ以外の点では同一の条件のもとで用いる、同じ手順を行って検出される染色を実質的に超えるレベルでフローサイトメトリーによって検出されない、かつ/またはマーカーについて陽性であることが知られている細胞についてのレベルよりも実質的に低いレベルである、かつ/またはマーカーについて陰性であることが知られている細胞についてのレベルと比較して実質的に類似するレベルである。

【0701】

別途定義される場合を除き、本明細書において使用するすべての専門用語、表記法、ならびに他の技術用語および科学用語または用語法は、本発明の主題が関係する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有することが意図される。いくつかの場合には、一般に理解されている意味を有する用語が、明快さのために、かつ/または即座の参照のために本明細書において定義されており、そして、そのような定義が本明細書に含まれることは、当技術分野において一般に理解されていることを超える実質的な違いを表すように必ずしも解釈されなければならないことはない。

【0702】

VII. 例示的な態様

提供される態様の中には以下のものが挙げられる：

1. 重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、該V_H領域が、SEQ ID NO:67、82、または52に示される配列を含む

10

20

30

40

50

重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、SEQ ID NO:71、86、56、または97に示される配列を含む重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、およびSEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含む重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3)を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:75、90、または60に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、SEQ ID NO:77、92、または62に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、およびSEQ ID NO:79、94、または64に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3)を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

2. 重鎖可変 (V_H) 領域および軽鎖可変 (V_L) 領域を含む抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、および重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3)を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3)を含むか；

該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；

該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または

該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

3. 前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、態様1または態様2の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

4. 前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、態様1または態様2の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

5. 重鎖可変 (V_H) 領域および軽鎖可変 (V_L) 領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、または130に含まれている重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、および重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3)を含み、かつ

該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、または106に含まれている軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3)を含む、

抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

6. 重鎖可変 (V_H) 領域および軽鎖可変 (V_L) 領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112に含まれている重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、および重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3)を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115に含まれている軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3)を含むか；

該V_H領域が、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID: NO 124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；

該V_H領域が、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID:NO 106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または

該V_H領域が、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID:NO 106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、

抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

7. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID:NO 115に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、態様5または態様6の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

10

8. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID:NO 124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、態様5または態様6の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

9. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、または130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ

前記V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、または106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、
態様1、2、5および6のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

20

10. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；

30

前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；

40

前記V_H領域が、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、

50

90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；あるいは

10

前記V_H領域が、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、

20

態様1、2および5～7のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

11. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様1～10のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

30

12. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様1～10のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

40

13. 重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、または130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、

50

89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ

該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、または106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、
抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

10

14. 重鎖可変(V_H)領域および軽鎖可変(V_L)領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；

20

該V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；

30

該V_H領域が、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；あるいは

40

該V_H領域が、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは

50

約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

15. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様13または態様14の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

16. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様13または態様14の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

17. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、もしくは130に示される配列であるか、またはそれを含み、かつ

前記V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、もしくは106に示される配列であるか、またはそれを含む、

態様1、2、5、6、9、10、13および14のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

18. 前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含む；

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含む；

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む；または

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む、

態様1、2、5、6、9、10、13、14および17のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

19. 重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、もしくは130に示される配列であるか、またはそれを含み、かつ

該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、もしくは106に示される配列であるか、またはそれを含む、

抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

20. 重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む、抗ROR1抗体またはその抗原結合断片であって、

該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含む；

該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含む；

該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む；または

該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む、

抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

21. 前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、またはそれを含む、態様1～20のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

22. 前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、またはそれを含む、態様1～20のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

23. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:110、119、101、または128によって、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、もしくは128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:113、122、または104によって、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様1、2、5、6、9、10、13、14および17～20のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

24. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:111、120、102、もしくは129によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、前記V_L領域が、SEQ ID NO:114、123、105、もしくは131によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様1、2、5、6、9、10、13、14、17～20および23のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

25. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:110によって、あるいはSEQ ID NO:110に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは

は約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:113によって、あるいはSEQ ID NO:113に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様1~24のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

10

26. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:111によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:114によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様1~25のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

27. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:119によって、あるいはSEQ ID NO:119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:122によって、あるいはSEQ ID NO:122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様1~24のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

20

30

28. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:120によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:123によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様1~25のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

29. 単離されている、態様1~28のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

30. 組換え型である、態様1~29のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

31. 前記V_H領域および前記V_L領域の少なくとも一部分が、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する、態様1~30のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

40

32. 前記その抗原結合断片が、一本鎖断片、任意で単鎖Fv (scFv) を含む、態様1~31のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

33. 前記V_H領域が前記V_L領域に対してアミノ末端側である、態様1~32のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

34. 前記V_H領域が前記V_L領域に対してカルボキシ末端側である、態様1~32のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

35. 前記V_H領域および前記V_L領域が、フレキシブルリンカーによって連結されている、態様1~34のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

36. 前記フレキシブルリンカーがSEQ ID NO:41に示される配列を含む、態様35の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

50

37. 前記scFvが、SEQ ID NO:118、127、109、または134に示される配列、あるいはSEQ ID NO:118、127、109、または134に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様32、33、35および36のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

38. 前記scFvが、SEQ ID NO:118に示される配列であるか、またはそれを含む、態様32、33および35～37のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

10

39. 前記scFvが、SEQ ID NO:127に示される配列であるか、またはそれを含む、態様32、33および35～37のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

40. 前記scFvが、SEQ ID NO:116、125、107、または132によって、あるいはSEQ ID NO:116、125、107、または132に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様32、33および35～37のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

20

41. 前記scFvが、SEQ ID NO:117、126、108、もしくは133によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様32、33、35～37および40のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

42. 前記scFvが、SEQ ID NO:116によって、あるいはSEQ ID NO:116に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様32～41のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

30

43. 前記scFvが、SEQ ID NO:117によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様32～42のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

44. 前記scFvが、SEQ ID NO:125によって、あるいはSEQ ID NO:125に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様32～41のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

40

45. 前記scFvが、SEQ ID NO:126によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様32～41および43のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

46. 免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションをさらに含む、態様1～45のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

47. 免疫グロブリン定常領域の前記部分が、ヒンジ領域の少なくとも一部分またはその

50

バリエーションを含む、態様46の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

48. 前記免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションが、CH2領域および/もしくはCH3領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む、態様46または態様47の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

49. 前記免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションが、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質もしくはそのバリエーションに由来する、態様46～48のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

50. 受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1) タンパク質、任意でヒトROR1、に特異的に結合する、態様1～49のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

51. 前記ヒトROR1タンパク質が、SEQ ID NO:144、145、または146に示されるアミノ酸配列を含む、態様50の抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

52. 受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体2 (ROR2) タンパク質、任意でヒトROR2、には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する、態様1～51のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

53. 前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片の、ヒトROR2への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性が、ヒトROR1への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性よりも、少なくとも、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低い、態様1～52のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

54. 態様1～53および244～265のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む、一本鎖細胞表面タンパク質。

55. 態様1～53および244～265のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片と、異種分子または異種部分とを含む、コンジュゲート。

56. 前記異種分子または異種部分が治療部分である、態様55のコンジュゲート。

57. 態様1～53および244～265のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片を含む細胞外抗原結合ドメインと、細胞内シグナル伝達領域とを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体 (CAR)。

58. 重鎖可変 (V_H) 領域および軽鎖可変 (V_L) 領域を含む細胞外抗原結合ドメインならびに細胞内シグナル伝達領域を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体 (CAR) であって、該 V_H 領域が、SEQ ID NO:67、82、または52に示される配列を含む重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、SEQ ID NO:71、86、56、または97に示される配列を含む重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、およびSEQ ID NO:73、88、58、または99に示される配列を含む重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3) を含み、かつ該 V_L 領域が、SEQ ID NO:75、90、または60に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、SEQ ID NO:77、92、または62に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、およびSEQ ID NO:79、94、または64に示される配列を含む軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体 (CAR)。

59. 重鎖可変 (V_H) 領域および軽鎖可変 (V_L) 領域を含む細胞外抗原結合ドメインならびに細胞内シグナル伝達領域を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体 (CAR) であって、

該 V_H 領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、および重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3) を含み、かつ該 V_L 領域が、それぞれSEQ ID NO:75、77、および79に示される配列を含む、軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) を含むか；

該 V_H 領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該 V_L 領域が、それぞれSEQ ID NO:90、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；

該 V_H 領域が、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該 V_L 領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、

10

20

30

40

50

および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むか；または
該V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含む、CDR-H
1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、
および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、
抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）。

60. 前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:67、71、および73に示される配列を含む、
CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:7
5、77、および79に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、
態様58または態様59の抗ROR1キメラ抗原受容体。

61. 前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:82、86、および88に示される配列を含む、
CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:9
0、92、および94に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、
態様58または態様59の抗ROR1キメラ抗原受容体。

62. 重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインな
らびに細胞内シグナル伝達領域を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、または130に含まれている重鎖相補性決
定領域1（CDR-H1）、重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）、および重鎖相補性決定領域3
（CDR-H3）を含み、

該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、または106に含まれている軽鎖相補性決定領域
1（CDR-L1）、軽鎖相補性決定領域2（CDR-L2）、および軽鎖相補性決定領域3（CDR-
L3）を含む、

抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）。

63. 重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインな
らびに細胞内シグナル伝達領域を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112に含まれている重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、重
鎖相補性決定領域2（CDR-H2）、および重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含み、かつ
該V_L領域が、SEQ ID NO:115に含まれている軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、軽鎖相
補性決定領域2（CDR-L2）、および軽鎖相補性決定領域3（CDR-L3）を含むか；

該V_H領域が、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を
含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID:NO 124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCD
R-L3を含むか；

該V_H領域が、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を
含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID:NO 106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCD
R-L3を含むか；または

該V_H領域が、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を
含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID:NO 106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCD
R-L3を含む、

抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）。

64. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-
H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID:NO 115に含まれているCDR-L1、CDR-L2、お
よびCDR-L3を含む、態様62または態様63の抗ROR1キメラ抗原受容体。

65. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-
H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID:NO 124に含まれているCDR-L1、CDR-L2、お
よびCDR-L3を含む、態様62または態様63の抗ROR1キメラ抗原受容体。

66. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、または130に対して、少なくとも
、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約
88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もし
くは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96
%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは
約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ

10

20

30

40

50

67. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；

前記V_H領域が、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含むか；あるいは

前記V_H領域が、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%

50

5%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様58、59および62～64のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

68. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様58～67のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

69. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様58～67のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

70. 重鎖可変(V_H)領域および軽鎖可変(V_L)領域を含む細胞外抗原結合ドメインならびに細胞内シグナル伝達領域を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体(CAR)であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、または130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ

30

該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、または106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、抗ROR1キメラ抗原受容体(CAR)。

40

71. 重鎖可変(V_H)領域および軽鎖可変(V_L)領域を含む細胞外抗原結合ドメインならびに細胞内シグナル伝達領域を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体(CAR)であって、

該V_H領域が、SEQ ID NO:112に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ該V_L領域が、SEQ ID NO:115に対して、少な

50

10

20

30

40

50

様70または態様71の抗ROR1キメラ抗原受容体。

73. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:121に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:124に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様70または態様71の抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

74. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、もしくは130に示される配列であるか、またはそれを含み、かつ

前記V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、もしくは106に示される配列であるか、またはそれを含む、

態様58、59、62、63、66、67、70および71のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

75. 前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含む；

20

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含む；

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む；または

前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む、

態様58、59、62、63、66、67、70、71および74のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

76. 重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインならびに細胞内シグナル伝達領域を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、

30

該V_H領域が、SEQ ID NO:112、121、103、もしくは130に示される配列であるか、またはそれを含み、

該V_L領域が、SEQ ID NO:115、124、もしくは106に示される配列であるか、またはそれを含む、

抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）。

77. 重鎖可変（V_H）領域および軽鎖可変（V_L）領域を含む細胞外抗原結合ドメインならびに細胞内シグナル伝達領域を含む、抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）であって、

該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、もしくはそれを含む；

該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、もしくはそれを含む；

40

該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む；または

該V_H領域および該V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、もしくはそれを含む、

抗ROR1キメラ抗原受容体（CAR）。

78. 前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:112および115に示される配列であるか、またはそれを含む、態様58～77のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

79. 前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:121および124に示される配列であるか、またはそれを含む、態様58～77のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

50

80. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:110、119、101、または128によって、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、または128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:113、122、または104によって、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様58、59、62、63、66、67、70、71および74~77のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

81. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:111、120、102、もしくは129によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、前記V_L領域が、SEQ ID NO:114、123、105、もしくは131によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様58、59、62、63、66、67、70、71、74~77および80のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

82. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:110によって、あるいはSEQ ID NO:110に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:113によって、あるいはSEQ ID NO:113に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様58~81のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

83. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:111によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:114によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様58~82のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

84. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:119によって、あるいはSEQ ID NO:119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:12

50

2によって、あるいはSEQ ID NO:122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様58～81のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

85. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:120によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:123によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様58～82のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

86. 前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が単離されている、態様58～85のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

87. 前記抗ROR1抗体またはその抗原結合断片が組換え型である、態様58～86のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

88. 前記V_H領域および前記V_L領域の少なくとも一部分が、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する、態様58～87のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

89. 前記その抗原結合断片が、一本鎖断片、任意で単鎖Fv (scFv) を含む、態様58～88のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

90. 前記V_H領域が前記V_L領域に対してアミノ末端側である、態様58～89のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

91. 前記V_H領域が前記V_L領域に対してカルボキシ末端側である、態様58～89のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

92. 前記V_H領域および前記V_L領域が、フレキシブルリンカーによって連結されている、態様58～91のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

93. フレキシブルリンカーがSEQ ID NO:41に示される配列を含む、態様92の抗ROR1キメラ抗原受容体。

94. 前記scFvが、SEQ ID NO:118、127、109、または134に示される配列、あるいはSEQ ID NO:118、127、109、または134に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様89、90、92および93のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

95. 前記scFvが、SEQ ID NO:118に示される配列であるか、またはそれを含む、態様89、90および92～94のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

96. 前記scFvが、SEQ ID NO:127に示される配列であるか、またはそれを含む、態様89、90および92～94のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

97. 前記scFvが、SEQ ID NO:116、125、107、または132によって、あるいはSEQ ID NO:116、125、107、または132に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様89、90および92～94のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

98. 前記scFvが、SEQ ID NO:117、126、108、もしくは133によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様89、90、92～94および40のいずれか

50

の抗ROR1キメラ抗原受容体。

99. 前記scFvが、SEQ ID NO:116によって、あるいはSEQ ID NO:116に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様89~98のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

100. 前記scFvが、SEQ ID NO:117によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様89~99のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

101. 前記scFvが、SEQ ID NO:125によって、あるいはSEQ ID NO:125に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様89~98のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

102. 前記scFvが、SEQ ID NO:126によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様89~98および100のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

103. スペーサーをさらに含む、態様58~102のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

104. 前記スペーサーが、免疫グロブリンの少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む、態様103の抗ROR1キメラ抗原受容体。

105. 前記スペーサーが、免疫グロブリンのヒンジ領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む、態様103または態様104の抗ROR1キメラ抗原受容体。

106. 前記スペーサーが、15または約15アミノ酸長未満である、態様103~105のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

107. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:1、26、27、29、31、32、33、または135に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様103~106のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

108. 前記ヒンジ領域の少なくとも一部分が、IgG4ヒンジ領域（任意でヒトIgG4ヒンジ領域）の全部または一部分またはそのバリエーションを含む、態様105~107のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

109. 前記ヒンジ領域の少なくとも一部分が、IgG2ヒンジ領域（任意でヒトIgG2ヒンジ領域）の全部または一部分またはそのバリエーションを含む、態様105~107のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

110. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:135に示される配列であるか、またはそれを含む、態様103~109のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

111. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:192によって、あるいはSEQ ID NO:192に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94

50

%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様103～110のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

112. 前記スパーサーが、SEQ ID NO:136によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様103～111のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

113. 前記スパーサーが、免疫グロブリンのCH3領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む、態様103～112のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

114. CH3領域の前記少なくとも一部分が、IgG4 CH3および/またはIgG2 CH3の全部または一部分を含み、該IgG4 CH3が任意でヒトIgG4 CH3であり、該IgG2 CH3が任意でヒトIgG2 CH3である、態様103～113のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

115. 前記スパーサーが、免疫グロブリンのヒンジ領域の少なくとも一部分およびCH3領域の少なくとも一部分またはそれらのバリエーションを含む、態様103～114のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

116. 前記スパーサーが、111もしくは約111アミノ酸長、112もしくは約112アミノ酸長、113もしくは約113アミノ酸長、114もしくは約114アミノ酸長、115もしくは約115アミノ酸長、116もしくは約116アミノ酸長、117もしくは約117アミノ酸長、118もしくは約118アミノ酸長、119もしくは約119アミノ酸長、120もしくは約120アミノ酸長、121もしくは約121アミノ酸長、122もしくは約122アミノ酸長、123もしくは約123アミノ酸長、124もしくは約124アミノ酸長、または125もしくは約125アミノ酸長であるか、あるいは前記のものいずれかの間の長さを有する、態様103～115のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

117. 前記スパーサーが、120または約120アミノ酸長である、態様103～116のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

118. 前記スパーサーが、SEQ ID NO:138に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様103～117のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

119. 前記スパーサーが、SEQ ID NO:138に示される配列であるか、またはそれを含む、態様103～118のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

120. 前記スパーサーが、SEQ ID NO:193によって、あるいはSEQ ID NO:193に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様103～119のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

121. 前記スパーサーが、SEQ ID NO:139によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様103～120のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

122. 前記スパーサーが、免疫グロブリンのCH2の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む、態様103～121のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

123. CH2領域の前記少なくとも一部分が、IgG4 CH2および/またはIgG2 CH2の全部または一部分を含み、該IgG4 CH2が任意でヒトIgG4 CH2であり、該IgG2 CH2が任意でヒトIgG2 CH2である、態様103～122のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

124. 前記スパーサーが、免疫グロブリンの、ヒンジ領域の少なくとも一部分、CH2の

50

少なくとも一部分、およびCH3領域の少なくとも一部分、またはそれらのバリエーションを含む、態様103~123のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

125. 前記スペーサーが、130もしくは約130アミノ酸長、140もしくは約140アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長、160もしくは約160アミノ酸長、170もしくは約170アミノ酸長、180もしくは約180アミノ酸長、190もしくは約190アミノ酸長、200もしくは約200アミノ酸長、210もしくは約210アミノ酸長、220もしくは約220アミノ酸長、221もしくは約221アミノ酸長、222もしくは約222アミノ酸長、223もしくは約223アミノ酸長、224もしくは約224アミノ酸長、225もしくは約225アミノ酸長、226もしくは約226アミノ酸長、227もしくは約227アミノ酸長、228もしくは約228アミノ酸長、229もしくは約229アミノ酸長、または230もしくは約230アミノ酸長であるか、あるいは前記のもののいずれかの間の長さを有する、態様103~124のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

126. 前記ヒンジ領域、前記CH2領域、および前記CH3領域のうちの1つまたは複数、ヒトIgG4に由来するCH2領域の全部または一部分およびCH3領域の全部または一部分を含む、態様103~125のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

127. 前記ヒンジ領域、前記CH2領域、および前記CH3領域のうちの1つまたは複数、キメラであり、かつヒトIgG4およびヒトIgG2に由来するヒンジ、CH2領域、およびCH3領域を含む、態様103~125のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

128. 前記スペーサーが、IgG4/2キメラヒンジ領域、またはヒトIgG4ヒンジと比べて少なくとも1つのアミノ酸置換を含む改変型IgG4ヒンジ領域；IgG2/4キメラCH2領域；およびIgG4 CH3領域を含む、態様103~125のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

129. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:194に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様103~125のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

130. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:194に示される配列であるか、またはそれを含む、態様103~129のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

131. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:195によって、あるいはSEQ ID NO:195に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列によってコードされるアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様103~130のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

132. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:196によってコードされるアミノ酸配列であるか、またはそれを含む、態様103~131のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

133. 前記細胞内シグナル伝達領域が細胞内シグナル伝達ドメインを含む、態様58~132のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

134. 前記細胞内シグナル伝達ドメインが、T細胞において一次活性化シグナルを誘導することができ、T細胞受容体（TCR）構成要素であり、かつ/または免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ITAM）を含む、態様133の抗ROR1キメラ抗原受容体。

135. 前記細胞内シグナル伝達ドメインが、CD3-ゼータ（CD3ζ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインまたはその機能性バリエーションもしくはシグナル伝達部分であるか、あるいはそれを含む、態様133または態様134の抗ROR1キメラ抗原受容体。

136. 前記細胞内シグナル伝達ドメインが、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク

50

質に由来する、態様133～135のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

137. 前記細胞内シグナル伝達ドメインが、SEQ ID NO:13、14、または15に示される配列、あるいはSEQ ID NO:13、14、または15に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様133～136のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

138. 前記細胞内シグナル伝達ドメインが、SEQ ID NO:13に示される配列であるか、またはそれを含む、態様133～137のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

139. 前記細胞内シグナル伝達領域が共刺激シグナル伝達領域をさらに含む、態様133～138のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

140. 前記共刺激シグナル伝達領域が、T細胞共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインまたはそのシグナル伝達部分を含む、態様139の抗ROR1キメラ抗原受容体。

141. 前記共刺激シグナル伝達領域が、CD28、4-1BB、またはICOSの細胞内シグナル伝達ドメインまたはそのシグナル伝達部分を含む、態様139または態様140の抗ROR1キメラ抗原受容体。

142. 前記共刺激シグナル伝達領域が、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する、態様140～141のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

143. 前記共刺激シグナル伝達領域が、CD28の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、態様140～142のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

144. 前記共刺激シグナル伝達領域が、SEQ ID NO:10に示される配列、あるいはSEQ ID NO:10に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様140～143のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

145. 前記共刺激シグナル伝達領域が、4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを含む、態様140～144のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

146. 前記共刺激シグナル伝達領域が、SEQ ID NO:12に示される配列、あるいはSEQ ID NO:12に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様140～142および145のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

147. 膜貫通領域をさらに含む、態様58～146のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

148. 前記共刺激シグナル伝達領域が、膜貫通領域と細胞内シグナル伝達ドメインの間にある、態様140～147のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

149. 前記膜貫通領域が、CD4、CD28、もしくはCD8に由来する膜貫通ドメインであるか、またはそれを含む、態様147または態様148の抗ROR1キメラ抗原受容体。

150. 前記膜貫通領域が、CD28に由来する膜貫通ドメインであるか、またはそれを含む、態様147～149のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

151. 前記膜貫通領域が、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する、態様147～150のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

152. 前記膜貫通ドメインが、SEQ ID NO:8、あるいはSEQ ID NO:8に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様147～151のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

153. コードされている前記キメラ抗原受容体が、そのN末端からC末端に向かって順に

10

20

30

40

50

、前記細胞外抗原結合ドメイン、前記スペーサー、前記膜貫通領域、および前記細胞内シグナル伝達領域を含む、態様147～152のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

154. コードされている前記キメラ抗原受容体が、そのN末端からC末端に向かって順に、scFvを含む細胞外抗原結合ドメイン；任意でSEQ ID NO:135に示される配列を含む、改変型IgG4ヒンジを含むスペーサー；膜貫通ドメイン、任意でヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン；およびCD3-ゼータ（CD3ζ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと、任意で4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを含む共刺激シグナル伝達領域の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、細胞内シグナル伝達領域を含む、態様58～153のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

155. コードされている前記キメラ抗原受容体が、そのN末端からC末端に向かって順に、scFvを含む細胞外抗原結合ドメイン；任意でSEQ ID NO:138に示される配列を含む、改変型IgG4ヒンジ-CH3を含むスペーサー；膜貫通ドメイン、任意でヒトCD28に由来する膜貫通ドメイン；およびCD3-ゼータ（CD3ζ）鎖の細胞質シグナル伝達ドメインと、任意で4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを含む共刺激シグナル伝達領域の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、細胞内シグナル伝達領域を含む、態様58～153のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

156. SEQ ID NO:184、185、186、187、188、または189に示される配列、あるいはSEQ ID NO:184、185、186、187、188、または189に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様58～155のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

157. SEQ ID NO:184に示される配列、またはSEQ ID NO:184に示される配列に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様58～156のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

158. SEQ ID NO:184に示される配列であるか、またはそれを含む、態様58～157のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

159. SEQ ID NO:185に示される配列、またはSEQ ID NO:185に示される配列に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様58～156のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

160. SEQ ID NO:185に示される配列であるか、またはそれを含む、態様58～156および159のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

161. SEQ ID NO:156、157、158、159、160もしくは161に示される配列によって、またはSEQ ID NO:156、157、158、159、160もしくは161に示される配列に対して少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列によってコードされる、態様58～156のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

162. SEQ ID NO:156に示される配列によって、またはSEQ ID NO:156に示される配列に対して少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列によってコードされる、態様58～158および161のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

163. SEQ ID NO:156に示される配列によってコードされる、態様58～158、161および162のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

164. SEQ ID NO:157に示される配列によって、またはSEQ ID NO:157に示される配列に対して少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列によってコードされる、態様58～156および159～161のいずれ

10

20

30

40

50

かの抗ROR1キメラ抗原受容体。

165. SEQ ID NO:157に示される配列によってコードされる、態様58～156、159～161および164のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

166. 受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1) タンパク質、任意でヒトROR1、に特異的に結合する、態様58～165のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

167. 前記ヒトROR1タンパク質が、SEQ ID NO:144、145、または146に示されるアミノ酸配列を含む、態様166の抗ROR1キメラ抗原受容体。

168. 受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体2 (ROR2) タンパク質、任意でヒトROR2、には結合しないか、交差反応しないか、またはより低いレベルもしくは度合いもしくは親和性で結合する、態様58～167のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

169. 前記抗ROR1キメラ抗原受容体の、ヒトROR2への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性が、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイにおいて、ヒトROR1への結合の程度、レベル、または度合い、または親和性よりも、少なくとも、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低い、態様58～168のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

170. ROR2タンパク質、任意でヒトROR2、の存在下で、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、ROR1タンパク質、任意でヒトROR1、の存在下でのレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す、態様58～169のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

171. ヒトROR2の存在下で、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、ヒトROR1の存在下でのレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性より少なくとも75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す、態様58～170のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

172. ROR2タンパク質、任意でヒトROR2、の存在下で、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す、態様58～171のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

173. ROR2タンパク質、任意でヒトROR2、の存在下で、任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いレベルまたは度合いのシグナル伝達または活性を示す、態様58～172のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

174. 任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより高い抗原特異的シグナル伝達および/または抗原依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す、態様58～173のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

175. 任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体と比べて同じ、実質的に同じ、またはより低いトニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す、態様58～174のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

176. 任意で同じかまたは実質的に同じ条件下またはアッセイで、参照ROR1特異的キメラ抗原受容体のトニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性のレベルまたは度合いよりも少なくとも75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、または99%もしくは約99%低いレベルまたは度合いのトニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す、態様58～175のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

177. 前記参照ROR1特異的キメラ抗原受容体が、抗ROR1抗体R12もしくは抗ROR1抗体2A2またはその抗原結合断片、任意でR12または2A2に由来するscFvを含む、態様172

～176のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

178. 態様1～53および244～265のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合ドメイン、態様54の一本鎖細胞表面タンパク質、態様55もしくは態様56のコンジュゲート、または態様57～177および266～297のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体をコードする核酸を含む、ポリヌクレオチド。

179. SEQ ID NO:110、119、101、または128に示される配列、あるいはSEQ ID NO:110、119、101、または128に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:113、122、または104に示される配列、あるいはSEQ ID NO:113、122、または104に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む、態様178のポリヌクレオチド。

180. SEQ ID NO:110に示される配列、あるいはSEQ ID NO:110に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:113に示される配列、あるいはSEQ ID NO:113に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む、態様178または態様179のポリヌクレオチド。

181. SEQ ID NO:119に示される配列、あるいはSEQ ID NO:119に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:122に示される配列、あるいはSEQ ID NO:122に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、V_Lをコードする

核酸とを含む、態様178または態様179のポリヌクレオチド。

182. SEQ ID NO:116、125、107、または132に示される配列、あるいはSEQ ID NO:116、125、107、または132に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、scFvをコードする核酸を含む、態様178～180のいずれかのポリヌクレオチド。

10

183. SEQ ID NO:116に示される配列、あるいはSEQ ID NO:116に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、scFvをコードする核酸を含む、態様178～180および182のいずれかのポリヌクレオチド。

184. SEQ ID NO:125に示される配列、あるいはSEQ ID NO:125に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、scFvをコードする核酸を含む、態様178～180および182のいずれかのポリヌクレオチド。

20

185. SEQ ID NO:192に示される配列、あるいはSEQ ID NO:192に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む、態様178～184のいずれかのポリヌクレオチド。

30

186. SEQ ID NO:193に示される配列、あるいはSEQ ID NO:193に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む、態様178～184のいずれかのポリヌクレオチド。

40

187. SEQ ID NO:195に示される配列、あるいはSEQ ID NO:195に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む、態様178～184のいずれかのポリヌクレオチド。

50

188. 前記抗ROR1抗体もしくはその抗原結合ドメイン、前記一本鎖細胞表面タンパク質、前記コンジュゲート、または前記抗ROR1キメラ抗原受容体をコードする前記核酸が、少なくとも1つの改変型のスプライスドナー部位および/またはスプライスアクセプター部位を含み、1つまたは複数のヌクレオチド改変を含む該改変型スプライスドナー部位および/または該改変型アクセプター部位が、参照スプライスドナー部位および/または参照スプライスアクセプター部位に対応する、態様187のポリヌクレオチド。

189. 前記1つまたは複数のヌクレオチド改変が、核酸置換を含む、態様188のポリヌクレオチド。

190. 前記参照スプライスドナー部位および/または前記参照スプライスアクセプター部位が、標準的スプライス部位、非標準的スプライス部位、または隠れたスプライス部位である、態様188または態様189のポリヌクレオチド。

10

191. 前記参照スプライスドナーおよび/または前記参照スプライスアクセプター部位が、少なくとも、0.4もしくは約0.4、0.5もしくは約0.5、0.6もしくは約0.6、0.70もしくは約0.70、0.75もしくは約0.75、0.80もしくは約0.80、0.85もしくは約0.85、0.90もしくは約0.90、0.95もしくは約0.95、0.99もしくは約0.99、または1.0もしくは約1.0のスプライス部位予測スコアを有し；かつ/または

前記参照スプライスドナーおよび/または前記参照スプライスアクセプター部位が、少なくとも、40%もしくは約40%、50%もしくは約50%、60%もしくは約60%、70%もしくは約70%、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、85%もしくは約85%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、99%もしくは約99%、または100%もしくは約100%の確率でスプライス事象に関与していると予測される、態様188～190のいずれかのポリヌクレオチド。

20

192. 前記参照スプライスドナーおよび/または前記参照スプライスアクセプター部位が、少なくとも、0.70もしくは約0.70、0.75もしくは約0.75、0.80もしくは約0.80、0.85もしくは約0.85、0.90もしくは約0.90、0.95もしくは約0.95、0.99もしくは約0.99、または1.0もしくは約1.0のスプライス部位予測スコアを有し；かつ/または

前記参照スプライスドナーおよび/または前記参照スプライスアクセプター部位が、少なくとも、70%もしくは約70%、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、85%もしくは約85%、90%もしくは約90%、95%もしくは約95%、99%もしくは約99%、または100%もしくは約100%の確率でスプライス事象に関与していると予測される、態様188～191のいずれかのポリヌクレオチド。

30

193. 前記1つまたは複数のヌクレオチド改変のうちの少なくとも1つが、前記参照スプライスアクセプターおよび/または前記参照スプライスドナー部位のスプライス部位接合部の1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10残基内にある、態様188～192のいずれかのポリヌクレオチド。

194. 前記1つまたは複数のヌクレオチド改変が、サイレントおよび/もしくは縮重コードンをもたらし、かつ/またはコードされるタンパク質のアミノ酸配列を変化させない、態様188～193のいずれかのポリヌクレオチド。

195. 前記ポリヌクレオチドが細胞内で発現すると、該ポリヌクレオチドから転写されたRNA、任意でメッセンジャーRNA (mRNA) が、少なくとも、70%もしくは約70%、75%もしくは約75%、80%もしくは約80%、85%もしくは約85%、90%もしくは約90%、または95%もしくは約95%のRNA均一性を示す、態様188～194のいずれかのポリヌクレオチド。

40

196. 前記ポリヌクレオチドから転写されたRNA、任意でメッセンジャーRNA (mRNA) が、細胞内で発現すると、参照ポリヌクレオチドから転写されたmRNAの不均一性と比べて低減された不均一性を示し、該参照ポリヌクレオチドが該ポリヌクレオチドと同じアミノ酸配列をコードしており、ここで、該参照ポリヌクレオチドが、スパーサーをコードする核酸において1つもしくは複数のスプライスドナー部位および/または1つもしくは複数のスプライスアクセプター部位の存在によって異なり、かつ/または該ポリヌクレオチドと比べて1つもしくは複数のヌクレオチド改変を含む、態様188～195のいずれかのポリ

50

ヌクレオチド。

197. 前記RNA不均一性が、10%もしくは約10%より大きく、15%もしくは約15%より大きく、20%もしくは約20%より大きく、25%もしくは約25%より大きく、30%もしくは約30%より大きく、40%もしくは約40%より大きく、または50%もしくは約50%より大きく、またはより大きく低減される、態様196のポリヌクレオチド。

198. 前記参照ポリヌクレオチドから転写されたRNA、任意でメッセンジャーRNA (mRNA) が、10%もしくは約10%より大きい、15%もしくは約15%より大きい、20%もしくは約20%より大きい、25%もしくは約25%より大きい、30%もしくは約30%より大きい、40%もしくは約40%より大きい、または50%もしくは約50%より大きい、またはより大きいRNA不均一性を示す、態様196または態様197のポリヌクレオチド。

10

199. 前記RNA均一性および/または不均一性が、アガロースゲル電気泳動、チップベースのキャピラリー電気泳動、分析用超遠心分離、フィールドフローフラクショネーション、または液体クロマトグラフィーによって調べられる、態様188~198のいずれかのポリヌクレオチド。

200. ヒト細胞での発現用にコドンが最適化されている、態様188~199のいずれかのポリヌクレオチド。

201. SEQ ID NO:111、120、102、または129に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:114、123、105、または131に示される配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む、態様178、179、182、185、186および188~200のいずれかのポリヌクレオチド。

20

202. SEQ ID NO:111に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:114に示される配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む、態様178~180、182、183、185、186および198~201のいずれかのポリヌクレオチド。

203. SEQ ID NO:120に示される配列を含む、V_Hをコードする核酸と、SEQ ID NO:123に示される配列を含む、V_Lをコードする核酸とを含む、態様178、179、181、182、184~186および198~201のいずれかのポリヌクレオチド。

204. SEQ ID NO:117、126、108、または133に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む、態様178、179、182、185、186および188~201のいずれかのポリヌクレオチド。

205. SEQ ID NO:117に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む、態様178~180、182、183、185、186、198~201および204のいずれかのポリヌクレオチド。

30

206. SEQ ID NO:126に示される配列を含む、scFvをコードする核酸を含む、態様178、179、181、182、184~186、198~201および204のいずれかのポリヌクレオチド。

207. SEQ ID NO:136に示される配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む、態様178~185および188~206のいずれかのポリヌクレオチド。

208. SEQ ID NO:139に示される配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む、態様178~184、186および188~206のいずれかのポリヌクレオチド。

209. SEQ ID NO:196に示される配列を含む、スパーサーをコードする核酸を含む、態様178~184および187~206のいずれかのポリヌクレオチド。

40

210. SEQ ID NO:156、157、158、159、160もしくは161に示される配列、またはSEQ ID NO:156、157、158、159、160もしくは161に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む、態様178~186および188~209のいずれかのポリヌクレオチド。

211. SEQ ID NO:156に示される配列、またはSEQ ID NO:156に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む、態様178~186および188~210のいずれかのポリヌクレオチ

50

ド。

212. SEQ ID NO:156に示される配列を含む、態様178～186および188～211のいずれかのポリヌクレオチド。

213. SEQ ID NO:157に示される配列、またはSEQ ID NO:157に示される配列に対して、少なくとも、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む、態様178～186および188～210のいずれかのポリヌクレオチド。

214. SEQ ID NO:157に示される配列を含む、態様178～186、188～210および213のいずれかのポリヌクレオチド。

215. CD33シグナル配列、GM-CSFシグナル配列、CD8シグナル配列、またはIgκシグナル配列をさらに含む、態様178～214のいずれかのポリヌクレオチド。

216. CD33シグナル配列をさらに含む、態様178～214のいずれかのポリヌクレオチド。

217. CD33シグナル配列が、SEQ ID NO:190に示されるもの、あるいはSEQ ID NO:190に対して、少なくとも、80%もしくは約80%、81%もしくは約81%、82%もしくは約82%、83%もしくは約83%、84%もしくは約84%、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有する核酸配列である、態様215または態様216のポリヌクレオチド。

218. 態様178～217のいずれかのポリヌクレオチドを含む、ベクター。

219. ウイルスベクターである、態様218のベクター。

220. 前記ウイルスベクターが、レトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである、態様219のベクター。

221. 態様1～53および244～265のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、態様55もしくは態様56のコンジュゲート、態様54の一本鎖細胞表面タンパク質、態様57～177および266～297のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、態様178～217のいずれかのポリヌクレオチド、または218～220のいずれかのベクターを含む、細胞。

222. リンパ球である、態様221の細胞。

223. NK細胞またはT細胞である、態様222の細胞。

224. 前記細胞がT細胞であり、該T細胞がCD4+T細胞またはCD8+T細胞である、態様222または態様223の細胞。

225. 対象から得られた初代細胞である、態様221～224のいずれかの細胞。

226. 複数の前記細胞のうち、該複数の細胞の10%未満もしくは約10%未満、9%未満もしくは約9%未満、8%未満もしくは約8%未満、7%未満もしくは約7%未満、5%未満もしくは約5%未満、4%未満もしくは約4%未満、3%未満もしくは約3%未満、2%未満もしくは約2%未満、または1%未満もしくは約1%未満が、トニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す抗ROR1キメラ抗原受容体を含む、態様221～225のいずれかの細胞。

227. 態様1～53および244～265のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、態様55もしくは態様56のコンジュゲート、態様54の一本鎖細胞表面タンパク質、または態様57～177および266～297のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体を含む、組成物。

228. 態様221～226のいずれかの細胞を含む、組成物。

229. 薬学的に許容される賦形剤をさらに含む、態様227または態様228の組成物。

230. 前記組成物がCD4+T細胞およびCD8+T細胞を含み、該CD4+T細胞と該CD8+T細胞の比が、1:3または約1:3～3:1または約3:1、任意で1:2または約1:2～2:1または約2:1、任意で1:1または約1:1である、態様228または態様229の組成物。

10

20

30

40

50

231. 複数の前記細胞のうち、該複数の細胞の10%未満もしくは約10%未満、9%未満もしくは約9%未満、8%未満もしくは約8%未満、7%未満もしくは約7%未満、5%未満もしくは約5%未満、4%未満もしくは約4%未満、3%未満もしくは約3%未満、2%未満もしくは約2%未満、または1%未満もしくは約1%未満が、トニックシグナル伝達および/または抗原非依存性の活性もしくはシグナル伝達を示す抗ROR1キメラ抗原受容体を含む、態様227~230のいずれかの組成物。

232. 態様227~231のいずれかの組成物を、ROR1に関連する疾患または障害を有する対象に投与することを含む、治療方法。

233. 態様1~53および244~265のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、態様55もしくは態様56のコンジュゲート、態様54の一本鎖細胞表面タンパク質、態様57~177および266~297のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、態様178~217のいずれかのポリヌクレオチド、218~220のいずれかのベクター、または態様221~226のいずれかの細胞を、ROR1に関連する疾患または障害を有する対象に投与することを含む、治療方法。

234. ROR1に関連する疾患または障害の治療における使用のための、態様227~231のいずれかの組成物。

235. ROR1に関連する疾患または障害の治療のための医薬を製造するための、態様227~231のいずれかの組成物の使用。

236. ROR1に関連する疾患または障害の治療のための、態様227~231のいずれかの組成物の使用。

237. ROR1に関連する前記疾患または障害がROR1の発現と関連している、態様232~236および298~311のいずれかの使用または該使用のための方法、組成物。

238. ROR1に関連する前記疾患または障害がB細胞関連障害である、態様232~237および298~311のいずれかの使用または該使用のための方法、組成物。

239. ROR1に関連する前記疾患または障害ががんである、態様232~238および298~311のいずれかの使用または該使用のための方法、組成物。

240. 前記がんが、ROR1発現がんである、態様239の使用または該使用のための方法、組成物。

241. 前記ROR1発現がんが、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病(CLL)、急性骨髄性白血病(AML)、急性リンパ性白血病(ALL)、バーキットリンパ腫、マントル細胞リンパ腫(MCL)、非小細胞肺癌(NSCLC)、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、膵癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌からなる群より選択される、態様240の使用または該使用のための方法、組成物。

242. 態様1~53および244~265のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、態様54の一本鎖細胞表面タンパク質、態様55もしくは態様56のコンジュゲート、態様57~177および266~297のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、態様221~226の細胞、または態様227~231のいずれかの組成物と、使用説明書とを含むキットであって、任意で該説明書が、抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、抗ROR1キメラ抗原受容体、細胞、または組成物を、任意で態様234~241および298~311のいずれかの方法、使用のための組成物、または使用に従って、投与するためのものである、キット。

243. 態様1~53および244~265のいずれかの抗ROR1抗体もしくはその抗原結合断片、態様54の一本鎖細胞表面タンパク質、態様55もしくは態様56のコンジュゲート、態様57~177および266~297のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体、態様221~226の細胞、態様227~231のいずれかの組成物、または態様242のキットを含む、製造物品。

244. 前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、56、および58に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む

10

20

30

40

50

、態様1～53のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

245. 前記V_H領域が、それぞれSEQ ID NO:52、97、および99に示される配列を含む、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:60、62、および64に示される配列を含む、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、態様1～53のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

246. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:103に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、態様1～53のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

247. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:130に含まれているCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に含まれているCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む、態様1～53のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

248. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:103に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様1～53のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

249. 前記V_H領域が、SEQ ID NO:130に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含み、かつ前記V_L領域が、SEQ ID NO:106に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様1～53のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

250. 前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:103および106に示される配列であるか、またはそれを含む、態様1～53のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

251. 前記V_H領域および前記V_L領域が、それぞれSEQ ID NO:130および106に示される配列であるか、またはそれを含む、態様1～53のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

252. 前記抗体が完全長抗体である、態様1～53および244～251のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

253. 前記抗体が抗原結合断片である、態様1～53および244～251のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

254. 組換え型である、態様1～53および244～253のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

255. 前記V_H領域および前記V_L領域が、ヒトのものであるか、またはヒトタンパク質に由来する、態様1～53および244～254のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

10

20

30

40

50

256. 前記scFvが、SEQ ID NO:109に示される配列であるか、またはそれを含む、態様1～53および244～255のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

257. 前記scFvが、SEQ ID NO:134に示される配列であるか、またはそれを含む、態様1～53および244～255のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

258. SEQ ID NO:199に示される配列からなるエピトープまたはSEQ ID NO:199に示される配列内に存在するエピトープに特異的に結合する、態様1～53および244～257のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

259. さらに、SEQ ID NO:200～214のうちのいずれか1つの中から選択される配列からなる1つもしくは複数のエピトープまたはSEQ ID NO:200～214のうちのいずれか1つの中から選択される配列内に存在するエピトープに結合する、態様1～53および244～257のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

10

260. 約 1×10^{-11} M～約 1×10^{-7} Mの平衡解離定数 (K_D) でヒトROR1タンパク質に結合する、態様1～53および244～259のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

261. 約 1×10^{-8} M～約 1×10^{-7} Mの平衡解離定数 (K_D) でヒトROR1タンパク質に結合する、態様1～53および244～260のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

262. 約 5×10^{-11} M～約 1×10^{-10} Mの平衡解離定数 (K_D) でヒトROR1タンパク質に結合する、態様1～53および244～260のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

263. 約 1×10^{-5} 1/s～約 1×10^{-2} 1/sの解離速度定数 (k_d または k_{off}) でヒトROR1タンパク質に結合する、態様1～53および244～262のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

20

264. 約 1×10^{-3} 1/s～約 1×10^{-2} 1/sの解離速度定数 (k_d または k_{off}) でヒトROR1タンパク質に結合する、態様1～53および244～263のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

265. 約 1×10^{-5} 1/s～約 1×10^{-4} 1/sの解離速度定数 (k_d または k_{off}) でヒトROR1タンパク質に結合する、態様1～53および244～263のいずれかの抗ROR1抗体またはその抗原結合断片。

266. 前記ヒンジ領域の少なくとも一部分が、IgG4ヒンジ領域（任意でヒトIgG4ヒンジ領域）の全部または一部分またはそのバリエーションを含む、態様57～177のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

267. 前記ヒンジ領域の少なくとも一部分が、IgG2ヒンジ領域（任意でヒトIgG2ヒンジ領域）の全部または一部分またはそのバリエーションを含む、態様57～177のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

268. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:1に示される配列であるか、またはそれを含む、態様57～177のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

269. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:135に示される配列であるか、またはそれを含む、態様57～177のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

270. 前記スペーサーが、免疫グロブリンのヒンジ領域の少なくとも一部分およびCH3領域の少なくとも一部分またはそのバリエーションを含む、態様57～177のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

271. CH3領域の前記少なくとも一部分が、IgG4 CH3および/またはIgG2 CH3の全部または一部分を含み、該IgG4 CH3が任意でヒトIgG4 CH3であり、該IgG2 CH3が任意でヒトIgG2 CH3である、態様57～177および270のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

272. 前記スペーサーが、111もしくは約111アミノ酸長、112もしくは約112アミノ酸長、113もしくは約113アミノ酸長、114もしくは約114アミノ酸長、115もしくは約115アミノ酸長、116もしくは約116アミノ酸長、117もしくは約117アミノ酸長、118もしくは約118アミノ酸長、119もしくは約119アミノ酸長、120もしくは約120アミノ酸長、121もしくは約121アミノ酸長、122もしくは約122アミノ酸長、123もしくは約123アミノ酸長、124もしくは約124アミノ酸長、または125もしくは約125アミノ酸長

50

であるか、あるいは前記のもののいずれかの間の長さを有する、態様57～177、270および271のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

273. 前記スペーサーが、120または約120アミノ酸長である、態様57～177および270～272のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

274. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:3または138に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および270～273のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

275. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:3もしくは138に示される配列であるか、またはそれを含む、態様57～177および270～274のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

276. 前記スペーサーが、免疫グロブリンの、ヒンジ領域の少なくとも一部分、CH2の少なくとも一部分、およびCH3領域の少なくとも一部分、またはそれらのバリエーションを含む、態様57～177のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

277. CH2領域の前記少なくとも一部分が、IgG4 CH2および/またはIgG2 CH2の全部または一部分を含み、該IgG4 CH2が任意でヒトIgG4 CH2であり、該IgG2 CH2が任意でヒトIgG2 CH2である、態様57～177および276のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

278. 前記スペーサーが、130もしくは約130アミノ酸長、140もしくは約140アミノ酸長、150もしくは約150アミノ酸長、160もしくは約160アミノ酸長、170もしくは約170アミノ酸長、180もしくは約180アミノ酸長、190もしくは約190アミノ酸長、200もしくは約200アミノ酸長、210もしくは約210アミノ酸長、220もしくは約220アミノ酸長、221もしくは約221アミノ酸長、222もしくは約222アミノ酸長、223もしくは約223アミノ酸長、224もしくは約224アミノ酸長、225もしくは約225アミノ酸長、226もしくは約226アミノ酸長、227もしくは約227アミノ酸長、228もしくは約228アミノ酸長、229もしくは約229アミノ酸長、または230もしくは約230アミノ酸長であるか、あるいは前記のもののいずれかの間の長さを有する、態様57～177、276および277のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

279. 前記ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域のうちの1つもしくは複数、ヒトIgG4に由来するCH2領域の全部もしくは一部分およびCH3領域の全部もしくは一部分を含むか；または

前記ヒンジ領域、CH2、領域およびCH3領域のうちの1つもしくは複数、キメラであり、かつヒトIgG4およびヒトIgG2に由来するヒンジ、CH2領域、およびCH3領域を含むか；または

前記スペーサーが、IgG4/2キメラヒンジ領域、もしくはヒトIgG4ヒンジと比べて少なくとも1つのアミノ酸置換を含む変型IgG4ヒンジ領域；IgG2/4キメラCH2領域；およびIgG4 CH3領域を含む、態様57～177および276～278のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

280. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:37または194に対して、少なくとも、85%もしくは約85%、86%もしくは約86%、87%もしくは約87%、88%もしくは約88%、89%もしくは約89%、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および276～279のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

281. 前記スペーサーが、SEQ ID NO:37もしくは194に示される配列であるか、またはそれを含む、態様57～177および276～280のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

282. 前記膜貫通領域が、CD4、CD28、もしくはCD8に由来する膜貫通ドメインである

10

20

30

40

50

か、またはそれを含む、態様57～177および266～281のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

283. 前記膜貫通領域が、CD28、任意でヒトCD28、に由来する膜貫通ドメインであるか、またはそれを含む、態様57～177および266～282のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

284. 前記膜貫通ドメインが、SEQ ID NO:8または149、あるいはSEQ ID NO:8または149に対して、少なくとも、90%もしくは約90%、91%もしくは約91%、92%もしくは約92%、93%もしくは約93%、94%もしくは約94%、95%もしくは約95%、96%もしくは約96%、97%もしくは約97%、98%もしくは約98%、または99%もしくは約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および266～283のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

10

285. 前記細胞内シグナル伝達領域が、共刺激シグナル伝達領域をさらに含む、態様57～177および266～284のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

286. SEQ ID NO:184、185、186、187、188もしくは189に示される配列、またはSEQ ID NO:184、185、186、187、188もしくは189に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および266～285のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

287. SEQ ID NO:184に示される配列、またはSEQ ID NO:184に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

20

288. SEQ ID NO:184に示される配列であるか、またはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

289. SEQ ID NO:185に示される配列、またはSEQ ID NO:185に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

290. SEQ ID NO:185に示される配列であるか、またはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

30

291. SEQ ID NO:186に示される配列、またはSEQ ID NO:186に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

292. SEQ ID NO:186に示される配列であるか、またはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

293. SEQ ID NO:187に示される配列、またはSEQ ID NO:187に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

40

294. SEQ ID NO:187に示される配列であるか、またはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

295. SEQ ID NO:188に示される配列、またはSEQ ID NO:188に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

296. SEQ ID NO:188に示される配列であるか、またはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

297. SEQ ID NO:189に示される配列、またはSEQ ID NO:189に示される配列に対して、少なくとも、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%

50

、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列であるか、あるいはそれを含む、態様57～177および266～286のいずれかの抗ROR1キメラ抗原受容体。

298. 態様221～226のいずれかの細胞または態様227～231のいずれかの組成物を、ROR1と関連する疾患または障害を有する対象に投与することを含む、治療方法。

299. ROR1と関連する疾患または障害の治療における使用のための、態様221～226のいずれかの細胞または態様227～231のいずれかの組成物。

300. ROR1と関連する疾患または障害の治療のための医薬を製造するための、態様221～226のいずれかの細胞または態様227～231のいずれかの組成物の使用。

301. ROR1と関連する疾患または障害の治療のための、態様221～226のいずれかの細胞または態様227～231のいずれかの組成物の使用。

302. ROR1と関連する前記疾患または障害ががんである、態様232～241および298～302のいずれかの方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

303. 前記がんが、ROR1発現がんである、態様302の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

304. 前記がんが、ROR1を発現する固形腫瘍またはROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している、態様232～241および298～303のいずれかの方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

305. 前記がんが、ROR1を発現する固形腫瘍と関連している、態様232～241および298～304のいずれかの方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

306. 固形腫瘍と関連している前記がんが、神経芽細胞腫、腎細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、乳癌、扁平上皮細胞癌、黒色腫、骨髄腫、胃癌、脳の癌、肺癌、脾癌、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、副腎癌、および頭頸部癌からなる群より選択される、態様304または態様305の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

307. 前記肺癌が、非小細胞肺癌（NSCLC）、肺腺癌、腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌、および非定型カルチノイドである、態様306の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

308. 前記肺癌がNSCLCである、態様307の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

309. 前記乳癌がトリプルネガティブ乳癌（TNBC）である、態様306の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

310. 前記がんが、ROR1を発現する血液悪性腫瘍と関連している、態様232～241および298～304のいずれかの方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

311. 前記血液悪性腫瘍が、B細胞性白血病、リンパ腫、B細胞性慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病（ALL）、バーキットリンパ腫またはマントル細胞リンパ腫（MCL）からなる群より選択される、態様310の方法、あるいは使用のための細胞、組成物、抗体もしくはその抗原結合断片、一本鎖細胞表面タンパ

10

20

30

40

50

ク質、コンジュゲート、キメラ抗原受容体、ポリヌクレオチド、またはベクター、あるいは使用。

【実施例】

【0703】

VIII. 実施例

以下の実施例は、例示を目的として含まれるにすぎず、本発明の範囲を限定することは意図されていない。

【0704】

実施例1: 抗ROR1抗体の生成および評価

ROR1発現細胞に特異的に結合する例示的な抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1) 抗体を、遺伝子改変マウスの免疫処置によって生成し、評価した。

【0705】

A. 抗体の生成

完全ヒト抗体の可変領域を含む抗体を産生するように遺伝子改変されたマウス (Trianni, Inc., San Francisco, CA) を、ヒスチジンタグと融合させたヒトROR1の組換え細胞外ドメイン (ECD) を用いて免疫処置した。脾臓、リンパ節および骨髄を回収し、ROR1特異的メモリーB細胞および形質細胞を免疫親和性ベースの選択によって濃縮した。

【0706】

濃縮された画分に由来する細胞集団を、抗体の可変部重 (V_H) 鎖および可変部軽 (V_L) 鎖のハイスループットシングルセルペア (single-cell paired) シーケンシングに供した。ハイスループットシングルセル抗体シーケンシングは、概ねWO2012/048340、WO2012/048341、WO2016/044227およびWO2016/176322に記載のとおりに行なった。このシーケンシング方法では、シングルセルドロップレットを、ドロップレットと分子バーコードで、細胞集団に存在する大量数のシングルセルの各々について、抗体の V_H 配列と V_L 配列の個々のペアを1細胞レベルで同定するために使用した。抗体の V_H/V_L ペアの配列を合成のために選択し、ペアの候補の各々をコードするポリヌクレオチドを V_H 鎖と V_L 鎖の向き (V_H-V_L) または V_L-V_H の向きのいずれかの単鎖Fv断片 (scFv) として合成した。

【0707】

B. 抗ROR1キメラ抗原受容体 (CAR) の生成

合成したscFvコード配列を例示的なポリヌクレオチド構築物内にクローニングし、候補scFvを抗原結合ドメインとして含むキメラ抗原受容体 (CAR) をコードするポリヌクレオチド候補を生成した。具体的には、CARのポリヌクレオチド構築物には、シグナルペプチド；候補の抗ROR1 scFv；3つの例示的なスペーサー：改変型IgG4/IgG2-ヒンジ C_H2-C_H3 を含むスペーサー (SEQ ID NO:194)、改変型IgG4ヒンジ- C_H3 を含むスペーサー (SEQ ID NO:138) または改変型IgG4ヒンジ領域を含むスペーサー (SEQ ID NO:135) のうちの1つのスペーサー；ヒトCD28の膜貫通ドメイン；ヒト4-1BB細胞内シグナル伝達領域；およびヒトCD3- ζ の細胞内シグナル伝達領域をコードする核酸配列を含めた。また、構築物には、CARコード配列と形質導入マーカーとしての使用のための緑色蛍光タンパク質をコードする配列との間に下流T2Aリボソームスキップエレメント (SEQ ID NO:6) も含めた。CARをコードするポリヌクレオチドを、T細胞の形質導入用のレンチウイルス発現ベクター内にクローニングした。

【0708】

C. 候補抗ROR1 CARの評価

およそ400種類の候補抗ROR1 CARコード構築物を上記のとおり生成し、種々の候補抗ROR1 CARをコードする構築物を含むウイルス調製物を用いて、Nur77ノックインレポーターを含むJurkat T細胞株に個々に導入した (例えばWO2019/089982参照)。Nur77ノックイン細胞株には、T細胞受容体からのシグナルの刺激および/または免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM) を含む分子によって誘導される最初期応答遺伝子である内在性Nur77遺伝子座にノックインしたレポーター分子 (例えば、赤色蛍光タンパク質)

10

20

30

40

50

をコードする核酸配列を含めた。Jurkatレポーター細胞を、CARの細胞表面発現、抗原依存性および抗原非依存性のシグナル伝達、ならびに関連性はあるが相違する抗原であるROR2との交差反応性について評価した。

【0709】

形質導入後、レポーター細胞を、標的細胞、例えば、K562ヒト骨髓性白血病細胞（ROR1陰性）、高レベルのROR1を発現するように形質導入したK562細胞、低レベルのROR1を発現するように形質導入したK562細胞、および非特異的抗原ROR2を発現するK562細胞との共培養後の赤色蛍光タンパク質の発現について査定した。抗原非依存性の活性をさらに評価するため、形質導入レポーター細胞を、抗原発現標的細胞の非存在下で単独で培養した。また、形質導入したレポーター細胞を、GFP発現（形質導入マーカー）について、および可溶性の組換えROR1-Fc（IgGのFc領域と融合させた可溶性ヒトROR1）の結合について評価した。

10

【0710】

候補抗ROR1 CARを形質導入したJurkatレポーター細胞は、高レベルまたは低レベルのROR1を発現しているROR1発現標的細胞との共培養後のレポーター発現によって示される様々なレベルの抗原特異的活性；ROR1を発現していないK562細胞との共培養後または抗原発現標的細胞なしでの培養後のレポーター発現によって示される様々なレベルの抗原非依存性（トニック）シグナル伝達；非特異的抗原ROR2を発現する細胞との共培養後のレポーター発現によって示される様々なレベルの非特異的活性；および様々なレベルの可溶性ROR1-Fcとの結合を示した。高いROR1抗原依存性活性、低いトニックシグナル伝達、高いROR1-Fc結合、および低いROR2交差反応性を示すCAR候補を、ヒト初代T細胞での評価のために選択した。

20

【0711】

実施例2: 初代T細胞でのCARの発現および機能の評価

実施例1に記載の選択された抗ROR1 CARの発現および機能をヒト初代T細胞において評価した。

【0712】

3例のヒトドナーのうちの1例の白血球アフェレーシス試料から、免疫親和性に基づく濃縮により、CD4+T細胞およびCD8+T細胞を単離した。単離したCD4+T細胞およびCD8+T細胞をおよそ1:1の比で混合し、刺激し、実施例1に記載の選択された抗ROR1 CARのうちの1つ（A～ZおよびA1～M1のうちの1つで個々に表示）をコードするレンチウイルス調製物を形質導入し、拡大増殖のための条件下で培養した。この3例のヒトドナーは、白血球アフェレーシス試料中に存在するTサブセット細胞の割合（%）が異なり（例えば、ナイーブT細胞が15%未満、ナイーブT細胞が約40～60%、またはエフェクターメモリーRA T細胞（TEMRA）が約20%）、疾患対象間におけるT細胞サブセットのばらつきを表す。また、対照として、初代T細胞を、同様に刺激し、抗CD19 CAR、抗ROR1参照CAR（ウサギ由来の参照抗体R12、scFvはSEQ ID NO:143に示される）、または異なる供給減から得た2つの抗ROR1 CAR（N1、O1と表示）のうちの1つをコードするレンチウイルス調製物を形質導入した。

30

【0713】

CAR発現初代T細胞を、プレートに結合させたROR1-Fcで刺激し、24時間後、フローサイトメトリーにより、細胞内サイトカイン染色（ICS）による細胞内のIFN- γ 、TNF- α 、およびIL-2のレベルについて評価した。IFN- γ 、TNF- α 、およびIL-2を産生している細胞の割合（%）ならびに細胞毎の産生レベル（平均蛍光強度（MFI）によって測定）を調べた。また、刺激後、CAR発現初代T細胞を、T細胞活性化マーカー（例えば、CD25）、共刺激マーカー、特定のT細胞サブタイプ（例えばメモリー細胞サブタイプ）を示すマーカー、他のT細胞マーカー（例えばCD4およびCD8）の細胞表面発現、ROR1-Fc結合について染色し、GFP形質導入マーカーの発現について評価した。

40

【0714】

また、CAR発現初代T細胞を、ROR1を発現しているトリプルネガティブヒト乳癌細胞株

50

【0720】

当該ポリヌクレオチドによってコードされるCARの活性を評価するため、2例のヒトドナー対象に由来する白血球アフェレーシス試料から免疫親和性に基づく濃縮により単離したCD4+T細胞およびCD8+T細胞を刺激し、6つのCAR候補のうちの1つまたは対照としての抗ROR1 (R12) 参照CARをコードするレンチウイルス調製物を形質導入した。

【0721】

CAR候補を発現する細胞を、NucLight Red (NLR) で標識したROR1発現ヒト非小細胞肺癌細胞株H1975 (ATCC (登録商標) CRL-5908 (商標)) と共培養し、細胞傷害性およびサイトカイン産生を評価した。赤色蛍光シグナルの変化によって測定される生存標的細胞の減少を0~70時間の期間にわたって調べることにより、細胞溶解活性を評価した。また、70時間の共培養後に、上清中のサイトカインIFN- γ 、TNF- α 、およびIL-2の産生も評価した。対照として、標的細胞のみの培養物およびモック細胞 (CARを発現していない) と標的細胞との共培養物を評価した。

10

【0722】

図3A~3Bに示されているように、試験した候補抗ROR1 CARはすべて、ほぼ同等の、H1975標的細胞に対するインビトロ細胞傷害活性を示した。図4A~4Bに示されているように、試験した候補抗ROR1 CARはすべて、H1975標的細胞とのインビトロでの共培養後、種々のレベルのIFN- γ 、TNF- α 、およびIL-2を産生した。この結果により、コドン最適化およびプライス部位排除後、すべての試験構築物が、H1975 (NSCLC) 細胞株との共培養において細胞傷害性を示すことが示された。このアッセイで試験したCARの中でも、抗ROR1 CAR-A、抗ROR1 CAR-F、および抗ROR1 CAR-Gを発現する細胞は、概ね最も高いサイトカイン産生を示し、これは、評価した種々のサイトカインでも、抗ROR1 (R12) 参照CAR発現細胞によるサイトカインのサイトカイン産生とほぼ同等か、またはより多かった。特に、抗ROR1 CAR-Fを発現する細胞は、他の候補抗ROR1 CARおよび抗ROR1 (R12) 参照CARと比べて最も高いIL-2産生を示した。この結果は、H1975標的細胞との共培養におけるCAR候補のロバストなインビトロ機能活性と整合した。

20

【0723】

また、他のROR1発現標的細胞株、例えばMDA-MB-231ヒトトリプルネガティブ乳癌細胞、A549ヒト肺上皮癌細胞、およびBT-549ヒト乳管上皮癌細胞との1:4のE:T比での共培養後の上清中のサイトカインIL-2の産生も評価した。図4Cに示されているように、試験した候補抗ROR1 CARはすべて、MDA-MB-231、A549、およびBT-549標的細胞とのインビトロでの共培養後、種々のレベルのIL-2を産生した。この結果により、種々のすべての標的細胞と共培養したすべての場合で、抗ROR1 CAR-Fを発現する細胞は、他の候補抗ROR1 CARおよび抗ROR1 (R12) 参照CARと比べて最も高いIL-2産生を示すことが示された。

30

【0724】

実施例4: 動物モデルにおける養子移入後の抗ROR1 CAR発現T細胞のインビボ抗腫瘍効果

例示的な改変抗ROR1 CAR発現ヒト初代T細胞の抗腫瘍効果を、細胞の養子移入後の腫瘍担持動物モデル (例えば、H1975ヒト非小細胞肺癌異種移植片モデルおよびMDA-MB-231ヒトトリプルネガティブ乳癌異種移植片モデル) における腫瘍をモニタリングすることにより評価した。ヒトドナーのうちの1例から生成した、表E1に記載の抗ROR1 CAR - A、-F、-G、-I、-R、および-B1のうちの1つまたは参照抗ROR1 (R12) CARを発現している、実施例3に記載のインビトロアッセイで評価した改変ヒト初代T細胞の調製物を、マウスに投与した。

40

【0725】

A. H1975非小細胞肺癌モデル

1. 試験1

80匹のNOD.Cg.Prkdc^{scid}IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) マウスに各々、およそ 5×10^6 個のH1975非小細胞肺癌細胞を皮下注射した。腫瘍生着後16日目、各群の5匹のマウスは、抗ROR1 CAR -A、-F、-G、-I、-R、および-B1のうちの1つまたは抗ROR1 (R12) 参照C

50

ARを発現している改変ヒト初代T細胞の単回静脈内 (i.v.) 注射を、 1×10^6 個の細胞の用量 (低用量) または 3×10^6 個の細胞の用量 (高用量) で受けた。対照として、CARを発現していない 3×10^6 個の細胞 (モック) をマウスに投与するか、または未処置とした。生存率、腫瘍体積、および血中の循環CAR+細胞の数を、およそ65日間にわたって評価した。
【0726】

養子移入された抗ROR1 CAR+T細胞の抗腫瘍活性を、投与後3~6日毎に腫瘍体積を測定することによりモニタリングした。図5A (低用量) および図5B (高用量) は、すべての処置マウスの平均腫瘍体積を示す; この図において、腫瘍曲線は、群内で最初にマウスが疾患により死亡した後、終結させた。すべての個々のマウスの結果を図5C (低用量) または図5D (高用量) に示す。図5A~5Dに示されているように、候補抗ROR1 CAR発現ヒト初代T細胞は、H1975マウスモデルにおいて様々なレベルの抗腫瘍活性を示した。抗ROR1高用量投与後、CAR-F発現ヒト初代T細胞は、高用量投与後の腫瘍体積の縮小によって示されるように、抗ROR (R12) 参照CARを含む試験した抗ROR1 CARのうちで最も高い抗腫瘍活性を示した。具体的には、(ベースラインより下までの) 平均腫瘍退縮が、抗ROR1 CAR-F発現細胞の投与により最大52日間までもたらされたのに対して、参照R12 CAR発現細胞では6日間であった。高用量の抗ROR1 CAR-F発現細胞で処置したH1975腫瘍担持マウスの80% (5匹中4匹) が完全な持続性の腫瘍消失を示したが、高用量の参照R12 CAR発現細胞で処置した動物で完全な腫瘍消失を示したものはなかった。低用量では、抗ROR1 CAR-F発現細胞を投与された5匹の動物のうち3匹は、ベースラインより下までの腫瘍退縮を最大17日間示したが、R12 CAR発現細胞を投与された5匹の動物のうちベースラインより下までの腫瘍退縮を示したのは1匹だけであった。

【0727】

上記のとおり処置したマウスの生存率を評価した。各群のカプラン・マイヤー生存曲線を図6A~6Bに示す。図示のように、CAR候補を発現しているヒト初代T細胞の投与では、処置マウスの生存率に対して様々な効果が示された。このモデルでは、抗ROR1 CAR-Fまたは抗ROR1 CAR-Aを発現しているヒト初代T細胞を投与されたマウスは、一方または両方の試験用量で、抗ROR1 (R12) 参照CARでの生存とほぼ同等か、またはより長い生存を示した。抗ROR1 CAR-F発現細胞を投与されたマウスが最も長い生存を示し、このモデルでは最も高い用量において、CAR発現細胞の投与開始後65日目に100%超のマウスが生存していた。

【0728】

各マウスの血液中のCD4+およびCD8+CAR発現細胞の平均数を、低用量 (図7Aおよび7B) または高用量 (図7Cおよび7D) でのCAR発現T細胞の投与後10日目および24日目に測定した。また、各マウスの血液中のCD3+CAR発現細胞 (CD45+ CD3+ CAR+) の平均数も、低用量 (図7E) または高用量 (図7F) でのCAR発現T細胞の投与後10日目および24日目に測定した。図7A~7Fに示されているように、投与されたCAR+T細胞の用量が高いマウスほど高い平均CAR+T細胞数が観察された。抗ROR1 CAR-Fを発現しているT細胞は、このモデルにおいて、低用量および高用量のどちらの投与後もロバストな拡大増殖を示した。注入後10日目に、高用量および低用量でのCAR-F発現細胞の平均カウント数は、それぞれ226.5および13.1個の細胞/ μ l血液であったのに対し、高用量および低用量でのR12発現細胞の平均カウント数は、それぞれ7.6および2.5個の細胞/ μ l血液であった。注入後24日目に、高用量および低用量でのCAR-F発現細胞の平均カウント数は、それぞれ471.8および44.0個の細胞/ μ l血液であったのに対し、R12発現細胞のカウント数は、高用量および低用量それぞれ27.6および4.2個の細胞/ μ l血液であった。

【0729】

2. 試験2

同じH1975マウスモデルを用いた異なる試験において、生着H1975腫瘍を有する64匹のマウスを腫瘍体積の測定値に基づいて進行度分類し、抗ROR1 CAR-F、抗ROR1 CAR-A、または参照抗ROR1 (R12) CARを発現している改変ヒト初代T細胞の単回静脈内 (i.v.) 注射を、 1×10^6 個の細胞 (低用量) または 3×10^6 個の細胞 (高用量) の用量で、各群

の8匹のマウスに施した。対照として、CARを発現していない 3×10^6 個の細胞（モック）をマウスに投与するか、または未処置とした。腫瘍体積を最大およそ70日間測定し、循環CAR+T細胞数および生存率を最大およそ40日間測定した。

【0730】

抗ROR1 CAR-F、CAR-A、またはR12参照CARを低用量または高用量で投与されたマウスの平均腫瘍体積の変化を、それぞれ図8Aおよび8Bに示す。個々のマウスにおける平均腫瘍体積の変化を図8Cに示す。抗ROR1 CAR-F発現細胞の投与により、15日目に（ベースラインより下までの）平均腫瘍退縮がもたらされたのに対し、参照R12 CAR発現細胞の投与では、ベースラインより下までの平均腫瘍退縮は示されなかった（図8B）。高用量の抗ROR1 CAR-F発現細胞で処置したH1975腫瘍担持マウスの25%（8匹中2匹）は完全な持続性の腫瘍消失を示したが、3 高用量の参照R12 CAR発現細胞で処置したマウスのうち完全な腫瘍消失を示したのは12.5%（8匹中1匹）であった。

【0731】

マウスを、腫瘍の成長および体調について、CAR T細胞移入後、少なくとも週2回、69日間モニタリングし、腫瘍体積が 1500mm^3 を超えたとき、腫瘍の潰瘍化が起こったとき、重度の異種生成移植片対宿主病（xGvHD）の徴候が示されたとき、または別の様式での瀕死状態のときに安楽死させた。各群のマウスの生存率を図9A～9Bに示す。未処置で放置したか、またはモック処理細胞を投与したH1975異種移植片マウスの生存期間の中央値は20日間であった。高用量または低用量のR12 CAR T細胞を投与した動物の生存期間の中央値は、それぞれ33日間および29日間であった。抗ROR1 CAR-Fを投与されたマウスにおける生存期間の中央値は低用量では37.5日間までの生存であり、生存期間の中央値は高用量では不確定であり、62.5%（8匹中5匹）の動物が試験終了時、まだ生存していた。

【0732】

投与後7、14および21日目の血液1マイクロリットルあたりの平均CD4+およびCD8+ CAR+ T細胞カウント数を図10A～10Dに示す。上記の試験の結果と整合して、CAR-F発現細胞の平均カウント数は、その他のCAR発現細胞の平均カウント数と比べて、特に21日目および/または中でも、CD4+T細胞が（図10Aおよび図10C）が、あるいは高用量において（図10Cおよび図10D）最も高かった。高用量の投与後7、14および21日目、抗ROR1 CAR-F発現T細胞は、それぞれ37.6、105.6および46.6個の細胞/ μl 血液の平均カウント数を示したのに対し、参照R12発現細胞は、28.9、39.8および20.3個の細胞/ μl 血液の平均カウント数を示した。低用量の投与後7、14および21日目、抗ROR1 CAR-F発現細胞は、それぞれ2.2、55.4および6.9個の細胞/ μl 血液の平均カウント数を示したのに対し、参照R12発現細胞は、それぞれ3.1、40.8および5.5個の細胞/ μl 血液の平均カウント数を示した。

【0733】

図11Aおよび11Bは、投与後14日目の腫瘍内に存在するCD4+およびCD8+ CAR+ T細胞の数を示す。14日目の腫瘍内のCAR+細胞の数は、試験したCAR間ではほぼ同等であった。

【0734】

3. まとめ

図示のように、抗ROR1 CAR-F発現細胞を投与された、H1975肺腺癌異種移植片腫瘍を有するマウスは、腫瘍体積の低減、より長い生存、および循環CAR+T細胞数の増加によって示されるように、参照抗ROR1 R12 CARを投与されたマウスと比べて高い抗腫瘍活性を示した。抗ROR1 CAR-A発現細胞を投与されたマウスでは、抗腫瘍活性、生存、およびCAR+T細胞数が、抗ROR1 R12 CAR発現細胞とほぼ同等であった。

【0735】

B. MDA-MB-231トリプルネガティブ乳癌モデル

64匹のNOD.Cg.Prkdc^{scid}IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ（NSG）マウスに各々、ホタルルシフェラーゼを発現している 1×10^6 個のMDA-MB-231細胞を皮下注射した。腫瘍生着後7日目、各群の8匹のマウスは、抗ROR1 CAR-A、抗ROR1 CAR-F、または参照抗ROR1（R12）

CARを発現している改変ヒト初代T細胞の単回静脈内 (i.v.) 注射を、 1×10^6 個の細胞 (低用量) または 3×10^6 個の細胞 (高用量) の用量で受けた。対照として、CARを発現していない 3×10^6 個のT細胞 (モック) をマウスに投与するか、または未処置とした。腫瘍量の生物発光イメージングおよび血中の循環CAR+細胞の数のフローサイトメトリー解析をおよそ100日間にわたって評価した。

【0736】

養子移入されたCAR発現T細胞の抗腫瘍活性を、生物発光イメージングによりCAR-T細胞の投与後4~7日毎にモニタリングした。生物発光イメージングのため、マウスは、PBS中に再懸濁させたルシフェリン基質 (PerkinElmer, Waltham, MA) (およそ150mg/kg体重) の腹腔内 (i.p.) 注射を受けた。本質的にWO2015/095895に記載のとおりマウスに麻酔し、イメージングした。全光束 (光子/s) を各時間点で測定した。

【0737】

処置マウスの生物発光画像および全光束の測定値 (p/s) の平均の結果を、低用量のCAR発現細胞の投与後についてそれぞれ図12Bおよび13Aに; または高用量のCAR発現細胞の投与後についてそれぞれ図12Cおよび13Bに示す。図12Aは、未処置マウスまたはモックT細胞を投与したマウスの生物発光画像を示す。図13Cは、個々のマウスの全光束の測定値 (p/s) を示す。

【0738】

低用量または高用量での平均腫瘍体積の変化を、それぞれ図14Aおよび14Bに示す。図示のように、抗ROR1 CAR-F発現細胞を投与されたマウスは、低用量および高用量のどちらにおいても、概して、抗ROR1 (R12) 参照CAR発現細胞を投与されたマウスと比べて、処置動物における生物発光シグナルの度合いが低いこと (経時的な腫瘍の成長の低減を示す) および/また腫瘍成長の度合いが低いことが観察された。抗ROR1 CAR-A発現細胞を投与されたマウスは、低用量および高用量のどちらにおいても、抗ROR1 (R12) 参照CAR発現細胞を投与されたマウスと比べて、ほぼ同等の生物発光シグナルを有することが観察された。

【0739】

抗ROR1 CAR Fおよび参照CAR R12を発現しているT細胞の投与後、同じ試験においてさらなる時間点までの平均腫瘍体積の変化を、高用量および低用量について、それぞれ図14Cおよび14Dに示す。高用量または低用量における各処置条件での個々の処置マウスの腫瘍体積の結果を図14Eに示す。抗ROR1 CAR-F発現細胞の投与により、平均腫瘍退縮 (ベースラインより下まで、BLIによる測定時) が、BLI測定を終了した時点までの少なくとも35日間もたらされた。参照R12 CARでは、高用量 (図14Cおよび14E) または低用量 (図14Dおよび14E) のいずれにおいても平均ベースラインより下までの腫瘍退縮は示されなかった。皮下腫瘍体積により、抗ROR1 CAR-F発現細胞を高用量で投与されたマウスの50% (8匹中4匹) は完全な持続性の腫瘍消失を示したが、高用量のR12 CAR発現細胞で処置されたマウスのうち完全な腫瘍消失を示したのは12.5% (8匹中1匹) のみであった (図14Cおよび14E)。低用量では、抗ROR1 CAR-F発現細胞で処置した動物の25% (8匹中2匹) が完全な腫瘍消失を示したが、低用量の参照R12 CAR発現細胞で処置した動物では完全な腫瘍消失はもたらされなかった (図14Dおよび14E)。

【0740】

マウスを、腫瘍の成長および体調について、CAR T細胞移入後、少なくとも週2回、97日間モニタリングし、腫瘍体積が 1500mm^3 を超えたとき、腫瘍の潰瘍化が起こったとき、重度のxGvHDの徴候 (例えば、重度の皮膚炎および/またはxGvHDに起因する20%の体重減少) が示されたとき、あるいは別の様式での瀕死状態のときに安楽死させた。上記のとおり処置したマウスの生存率を評価した。各群のカプラン・マイヤー生存曲線を図15A~15Bに示す。未処置マウスの生存期間の中央値は61日間であった。高用量では、モック処理細胞を投与した動物のうち62.5% (8匹中5匹) が試験終了時に生存しており、いずれのCAR T細胞投与群にも死亡例はなかったため、抗ROR1 CAR-F発現細胞、R12参照CAR発現細胞またはモック処理細胞を投与されたマウスの生存期間の中央値は不確定であ

った（図15A）。低用量では、低用量のR12 CAR発現細胞を投与されたマウスの生存期間の中央値は96日間であり、試験終了時にまだ生存していた動物は8匹中3匹だけであったが、CAR-F発現細胞を投与されたマウスでは100%の生存（8匹中8匹）が観察された（図15B）。

【0741】

動物の血液中のCD4+およびCD8+CAR発現細胞の平均数を、低用量（図16A～16B）または高用量（図16C～16D）のCAR発現T細胞の投与後7、14、21および30日目に測定した。また、抗ROR1 CAR-FまたはR12参照CARを発現する細胞を投与された各マウスの血液中のCD3+CAR発現細胞（CD45+ CD3+ CAR+）の平均数も、7、14、21および30日目に測定し、図16Eに示す。高用量では、CAR-F発現T細胞の平均カウント数は、7、14、21および30日目で、それぞれ、5.0、19.4、50.7および119.2個の細胞/μl血液であったのに対して、R12発現T細胞の平均カウント数は6.0、5.4、3.9および5.4個の細胞/μl血液であった。また、低用量の投与ではほぼ同等の拡大増殖が示され、CAR-F発現細胞の平均カウント数は、7、14、21および30日目で、それぞれ1.4、4.9、20.9および58.5個の細胞/μl血液であったのに対して、R12発現細胞の平均カウント数は1.3、0.6、0.9および0.4個の細胞/μl血液であった。図示のように、抗ROR1 CAR-Fを発現する細胞は、MDA-MB-231マウスモデルにおいて、高用量および低用量のどちらで投与した場合も高い拡大増殖を示した。特に、抗ROR1 CAR F発現細胞は、14日目から始まって投与後30日目まで継続して、かなり高い拡大増殖を示した。

【0742】

C. 結論

この結果により、高い抗腫瘍活性およびT細胞拡大増殖ならびに抗ROR1 CAR-Fを投与されたマウスの生存の延長が、トリプルネガティブ乳癌異種移植片腫瘍モデルを含む2つの異なるインビボマウス腫瘍モデルを用いて裏付けられた。ほとんどの測定で、抗ROR1 CAR-F発現細胞は参照抗ROR1 R12 CARと比べて改善を示した。

【0743】

実施例5: 慢性リンパ性白血病（CLL）を有するヒト対象から生成した抗ROR1 CAR発現T細胞

慢性リンパ性白血病（CLL）を有するヒト対象から改変抗ROR CAR発現初代T細胞を生成し、インビトロでの細胞傷害性およびサイトカイン産生について評価した。

【0744】

A. CLLを有する対象に由来する抗ROR1 CAR発現細胞の生成

慢性リンパ性白血病（CLL）を有するヒト対象に由来する初代T細胞を、上記の実施例3に記載の例示的な抗ROR1 CARである抗ROR1 CAR-Fを発現するように改変した。

【0745】

CLLを有する2例のヒトドナーのうちの1例の白血球アフェレーシス試料から、CD4+T細胞およびCD8+T細胞を、免疫親和性に基づく濃縮により単離した。単離したCD4+T細胞およびCD8+T細胞をおよそ1:1の比で混合し、刺激し、実施例3に記載の抗ROR1 CAR-F、対照としての抗CD19 CAR、または抗ROR1参照CAR（R12）をコードするレンチウイルス調製物を形質導入し、拡大増殖のための条件下で培養した。CD4およびCD8枯渇白血球アフェレーシス試料をCD19およびROR1の発現レベルについて評価し、標的細胞集団としてアッセイに使用した。CLLを有する対象のうちの1例（CLLドナー1）では、ROR1の発現レベルが低く、テトラサイクリン系誘導体のドキシサイクリンに応答してROR1を発現するように改変されたK562ヒト慢性骨髄性白血病（CML）細胞株のドキシサイクリンの添加なしの場合とほぼ同等に低かった（実施例9参照）。

【0746】

B. 細胞溶解活性およびサイトカイン産生

CLLを有する対象に由来する、例示的な抗ROR1 CAR Fを発現している初代T細胞の細胞溶解活性を評価した。

【0747】

一例の実験において、対象から採取した標的細胞（CD4-およびCD8-枯渇白血球アフェレーシス試料）を、顕微鏡法による標的細胞の追跡を可能にするためにRapid Red細胞標識試薬で標識し、CAR発現細胞と共に2.5:1および0.25:1のE:T比でインキュベートするか、またはモック細胞と培養するか、または対照として単独で培養した。細胞溶解活性を、赤色蛍光シグナルの減少を0～60時間までの期間にわたって対照と比較して調べることで評価した。

【0748】

図17に示されているように、どちらのドナーでのどちらのE:T比でも、標識標的細胞による赤色蛍光シグナルは、CAR発現細胞と共培養した場合、標的細胞単独で観察される正常な細胞分裂による予測消滅またはモック形質導入細胞との共培養と比べてより速やかに消滅した。標的細胞と抗ROR1 CAR-F発現細胞との共培養後では、抗ROR1 R12発現細胞と比べてより多くの標的細胞の消滅が観察され、抗CD19 CAR発現細胞との共培養後の標的細胞の消滅と同等であった。

【0749】

異なる実験において、ROR1発現標的細胞の消滅をフローサイトメトリーによって評価した。このため、改変CAR発現細胞をCellTrace（商標）Violet（CTV）細胞増殖試薬で標識し、CLLを有する対象に由来する標的細胞と2.5:1および0.25:1のE:T比で共培養した。4日目、サイトカイン産生（IFN- γ 、TNF- α 、およびIL-2）を査定するために上清を収集し、CTVレベルをフローサイトメトリーによって評価するために細胞を収集した。

【0750】

図18Aに示されているように、CLLを有する対象から生成した抗ROR1 CAR F発現細胞と共培養したROR1+標的細胞の数は、単独で培養した標的細胞またはモック形質導入T細胞と共培養した標的細胞と比べてかなり減少した。この減少は、どちらのドナーのどちらのE:T比でも、R12発現細胞との共培養で観察された減少より大きかった。図18B～18Cに示されているように、CLLを有する対象から生成した抗ROR1 CAR F発現細胞は分裂し（図18B）、同じ対象に由来する標的細胞との共培養においてIFN- γ 、TNF- α 、およびIL-2（図18C）を産生した。増殖およびサイトカイン産生は、同じ条件で試験したR12発現細胞によるものとほぼ同等か、またはより高かった。

【0751】

この結果は、例示的な抗ROR1 CAR Fを発現している改変T細胞がCLLを有するヒト対象に由来する初代T細胞から成功裡に生成されるという観察結果と整合した。該細胞は、同じ対象に由来するROR1発現標的細胞と共にインキュベートした場合、いくつかの場合では、該標的細胞が低レベルのROR1を発現する場合であってもバイアブルであり、細胞溶解活性を示し、サイトカインを産生し、増殖した。この結果により、例示的な抗ROR1 CAR Fを発現する細胞は、改変CAR発現細胞の生成が難しいと以前に報告されたCLLを有する対象に由来する細胞を用いて生成することができることが裏付けられた（例えば、Gorgun et al., J Clin Invest. 2005 Jul;115 (7):1797-805 ; Ramsay et al., J Clin Invest. 2008 Jul; 118 (7):2427-37 ; Riches et al., Discov Med. 2013 Dec; 16 (90):295-302参照）。また、この結果により、例示的な抗ROR1 CAR発現細胞は、発現されるROR1が低レベルであっても標的細胞の死滅に有効であることが示され、高感度が実証された。ほとんどの測定で、抗ROR1 CAR-F発現細胞は、参照抗ROR1 R12 CARを発現する細胞と比べて改善を示した。

【0752】

実施例6: B細胞悪性腫瘍の動物モデルにおける養子移入後の抗ROR1 CAR発現T細胞のインビボ抗腫瘍効果

例示的な改変抗ROR1 CAR発現（CAR+）ヒト初代T細胞の抗腫瘍効果を、細胞の養子移入後の腫瘍を、播種性のヒトB細胞悪性腫瘍の動物モデルにおいてモニタリングすることにより評価した。マウスに、ヒトドナーから生成した、例示的な抗ROR1 CAR-Fを発現している改変ヒト初代T細胞の調製物を投与し、上記の実施例3に記載のようにして参照抗ROR1（R12）CARまたは抗CD19 CARと比較した。

【0753】

NOD.Cg.Prkdc^{scid}IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) マウスに、 1.0×10^6 個のホタルルシフェラーゼと緑色蛍光タンパク質 (FfLuc-GFP) 発現ヒトマントル細胞リンパ腫 (MCL) JeKo-1細胞を0日目に静脈内注射した。腫瘍量を、マウスに3mgのD-ルシフェリンを腹腔内注射した後の生物発光の分数を検出することにより、生物発光イメージング (BLI) によって評価した。6日目、マウスを、腫瘍量が均衡するように群に無作為化した。7日目、マウスに、ヒトドナーから生成した、例示的な抗ROR1 CAR-Fまたは抗ROR1 (R12) 参照CARを発現している改変ヒト初代T細胞を、マウス1匹あたり 1×10^6 個の細胞 (低用量) または 3×10^6 個の細胞 (高用量) の用量で投与した。対照として、マウスは、T細胞を全く受けないか、または同じドナーに由来する 3×10^6 個の細胞のモック処理T細胞を受けるかのいずれかとした。マウスを、腫瘍量および生存について投与後139日間モニタリングした。循環CAR+T細胞の数を投与後28日間モニタリングした。

【0754】

図19A (高用量) および図19B (低用量) は、すべての処置マウスの平均腫瘍体積を示す。すべての個々のマウスの結果を図19C (高用量) または図19D (低用量) に示す。図19Aおよび19Cに示されているように、 3×10^6 (高用量) の抗ROR1 CAR-F発現細胞または抗CD19 CAR+細胞を投与されたJeKo-1 MCL異種移植片マウスでは、平均腫瘍退縮 (ベースライン下まで) が少なくとも111日間 (BLI測定の最終日まで) もたらされた。比較において、R12 CAR+細胞を投与されたマウスで示された平均腫瘍退縮は最大でわずか27日間であった。図19Bおよび19Dに示されているように、低い方の用量 1×10^6 細胞では、CAR-Fを発現する細胞の投与により、試験の全期間 (最大111日間) で平均腫瘍退縮がもたらされた。比較において、抗CD19 CAR+細胞を投与されたマウスは平均腫瘍退縮を最大36日間示し、R12 抗ROR1参照CARを投与されたマウスでは平均腫瘍退縮は観察されなかった。

【0755】

マウスを、体調についてCAR T細胞投与後、少なくとも週2回、139日間モニタリングし、瀕死状態のとき、または重度の異種生成移植片対宿主病 (xGvHD) の徴候が示されたとき安楽死させた。各群のカプラン・マイヤー生存曲線を図20A (高用量) および図20B (低用量) に示す。未処置のJeKo-1異種移植片マウスは26.5日間の生存期間の中央値を有した。 3×10^6 個のモック処理細胞を投与した動物は56日間の生存期間の中央値を有した。いずれかの用量の抗ROR1 CAR-F発現T細胞で処置したすべての動物では、高用量 (3×10^6 個の細胞; 図20A) または低用量 (1×10^6 個の細胞; 図20B) のいずれかを投与した動物の75% (8匹中6匹) が試験終了時にまだ生存していたため生存期間の中央値を求めることができなかった。注目すべきことに、抗ROR1 CAR-Fを投与されたマウスにおいて観察された死亡例は、リンパ腫量ではなくxGvHDと関連していた。低用量および高用量のR12 CAR+T細胞を投与した動物の生存期間の中央値は、それぞれ70日間および106日間であった。低用量の抗CD19 CAR+T細胞を受けたマウスでは生存期間の中央値を求めることができず (8匹中7匹の動物が試験終了時に生存していた)、高用量での生存期間の中央値は139日間であった (8匹中4匹の動物が生存していた)。この群の死亡例も、リンパ腫量ではなく主にxGvHDと関連していた。

【0756】

各マウスの末梢血中のCAR+T細胞の平均数をフローサイトメトリーにより、CAR+T細胞の投与後7、14、21および28日目に評価した。図21に示されているように、抗ROR1 CAR-F発現細胞は、調べた両方の用量レベルで、投与後21日目または28日目の末梢血中において最も高い濃度の循環CAR+T細胞を示した。高用量では、抗CD19 CAR+T細胞は、投与後14日目に、抗ROR1 CAR-F (77.0個の細胞/ μ l血液) またはR12 CAR (25.0個の細胞/ μ l血液) のいずれかを発現する細胞よりかなり大幅な拡大増殖 (172.5個の細胞/ μ l血液) を示した。しかしながら、低用量では、21日目までに、抗ROR1 CAR-F発現細胞は、カウント数 (140.9個の細胞/ μ l血液) が、R12 CAR+ (0.3個の細胞/ μ l血液) 細胞および抗CD19 CAR+ (17.2個の細胞/ μ l血液) 細胞の両方と比べてかなり増大した。ほぼ

同等の拡大増殖の増大が高用量 抗ROR1 CAR-F発現細胞でも観察され、R12 CAR+細胞および抗CD19 CAR+細胞で、それぞれ10.2個の細胞/ μ l血液および66.8個の細胞/ μ l血液であったのに対して392.7個の細胞/ μ l血液であった。この拡大増殖の改善は細胞の投与後28日目でも観察された。

【0757】

この結果により、高い抗腫瘍活性、T細胞拡大増殖の改善および例示的な抗ROR1 CAR-Fを投与されたマウスの生存の長期化が、MCLを有するマウス異種移植片モデルにおいて裏付けられた。ほとんどの測定で、抗ROR1 CAR-F発現細胞は、参照抗ROR1 R12 CARと比べてかなりの改善を示し、抗CD19 CARを発現する細胞と比べてMCLに対してほぼ同等か、または改善された活性を示した。

【0758】

実施例7: エピトープマッピング

例示的な抗ROR1 CAR-FおよびCAR-Gに含めた例示的な抗ROR1抗原結合ドメイン (SEQ ID NO:118に示されるscFv配列) によって認識されるエピトープを、Chemical Linkage of Peptides onto Scaffolds (CLIPS, Pepscan Presto BV, Lelystad, The Netherlands; 例えばTimmerman et al., (2007) J. Mol. Recognit. 20: 283-329参照) による全不連続 (full discontinuous) エピトープマッピングを用いて評価した。マッピングは、scFvをヒトFcと融合させた (scFv-hFc; IgG1) またはマウスFcと融合させた (scFv-mFc) 抗ROR1 scFvクローンを用いて行なった。

【0759】

例示的な抗ROR1 scFv-mFcおよびscFv-hFcを発現させ、一過的にトランスフェクトしたHEK293細胞から精製し、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) および分析用サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) によって評価した。ROR1の細胞外ドメイン (ROR1 ECD) を組換え発現させ、一過的にトランスフェクトしたHEK293細胞から精製し、SDS-PAGEおよびSECによって評価した。結果により、抗ROR1 scFv-hFc、scFv-mFcおよびROR1-ECDの高度に純粋な組成物が示された (>99%純粋、scFv-hFcおよびROR1-ECDについて<1個の高分子量 多量体;>97%純粋、scFv-mFcについて<3%の高分子量多量体)。

【0760】

種々の長さの線状合成ペプチドおよび構造合成ペプチドのライブラリーをヒトROR1 (例えば、SEQ ID NO:144~146に示される) から生成し、各々、1個のアミノ酸残基のオフセットを有した。構造ペプチドのライブラリーは、異なる長さのペプチドが、ROR1の規定の3D構造、例えば、任意のシングルループ、ダブルループ、 α -ヘリックスおよび β -ターンセグメントに固定されるように調製した。ライブラリーをコンビナトリーマップにアレンジし、ROR1の構造的および/または不連続エピトープを表すループと線状ペプチドの組合せを非バイアス様式で得た。

【0761】

ELISAベースのヒートマップを、ROR1の個々の線状ペプチドおよび構造ペプチドならびに線状ペプチドと構造ペプチドの組合せに対してバインダーを用いて生成した。ポジティブ結合を示すペプチドにおける全ての残基の反復二重アラニン置換を行なった (野生型アラニン残基の場合は、グリシンを置換した)。アラニンで置換した場合、70%またはそれより大きい結合低減をもたらすアミノ酸をエピトープのコア成分であると判定した。

【0762】

エピトープマッピングの解析により、例示的な抗ROR1 CAR-FおよびCAR-Gに含めた例示的な抗ROR1抗原結合ドメインのscFv-hFc (SEQ ID NO:118に示されるscFv配列) は、主にアミノ酸FRSTIYGSRRLRIRNL (SEQ ID NO:199に示される; SEQ ID NO:144に示されるヒトROR1配列の残基78~92に対応) あたりの中心の不連続な構造依存性エピトープに結合されることが示された。表E2に、エピトープマッピングにより同定されたエピトープを示す。観察された結合のほとんどはFRSTIYGSRRLRIRNL (SEQ ID NO:199) の一部との組合せであり、エピトープの異なる領域間のある程度の協調性と整合する。

10

20

30

40

50

【 0 7 6 3 】

(表E2) 例示的な抗ROR1抗原結合ドメインの結合エピトープ

アミノ酸残基 (SEQ ID NO:144に 関する)	配列	SEQ ID NO:
5-17	LSVSAELVPTSSW	200
49-62	HCKVSGNPPPTIRW	201
62-87	WFKNDAPVVQEPRLSFRSTIYGSRL*	202
111-119	VSSTGVLFV	203
117-129	LFVKFGPPPTASP	204
133-143	DEYEEDGFCQP	205
142-155	QPYRGIACARFIGN*	206
191-204	SQFAIPSLCHYAFP	207
202-213	AFPYCDETSSVP	208
228-247	NVLCQTEYIFARSNPMILMR*	209
248-259	LKLPNCEDLPQP	210
259-273	PESPEAANCIRIGIP	211
290-303	VDYRGTVSVTKSGR	212
310-323	SQYPHTHTFTALRF	213
366-380	DSKEKNKMEILYILV	214

二重アラニン置換時に結合 $\geq 70\%$ 低減によって判定されたコア残基に下線を付し、太字で示す。*は、おそらくエピトープの複数種の小片部分を含む。

【 0 7 6 4 】

実施例8: 抗ROR1抗原結合ドメインの親和性および結合速度論

例示的な抗ROR1抗原結合ドメインの抗原ROR1に対する結合親和性および速度論を表面プラズモン共鳴 (SPR) によって評価した。

【 0 7 6 5 】

A. 結合親和性および速度論

組換えヒトROR1と例示的なROR1 CARの結合ドメイン間の相互作用の平衡解離定数 (K_D)、結合速度定数 (k_a または k_{on}) および解離速度定数 (k_d または k_{off}) を表面プラズモン共鳴 (SPR) により、Biacore (商標) T200機器およびBiacore (商標) T200 Evaluationソフトウェアv3を用いて求めた。具体的には、上記の実施例3および表E1に記載のCARのscFv結合ドメイン、例えばscFv ROR1-1、ROR1-2、ROR1-3およびROR1-4 (それぞれSEQ ID NO:118、127、109、および134に示される; CAR-A、CAR-F、CAR-G、CAR-I、CAR-RおよびCAR-B1のscFv結合ドメイン) ならびに参照CAR R12の抗原結合ドメイン (SEQ ID NO:142) を評価した。

【 0 7 6 6 】

組換え生成した抗ROR1 scFv結合ドメインおよびC末端6×Hisタグを有するROR1細胞外ドメイン (ROR1 ECD 6×His) を、結合親和性および速度論の解析に使用した。結合ドメインは、scFvとマウス免疫グロブリン重鎖IgG2aのFc部分との融合体 (scFv-mFc) として構築した。マウスIgG2aドメインには、Fc受容体および補体結合の両方を弱めるための4つの点変異を含めた。ROR1 ECD 6×Hisの活性濃度をキャリブレーションフリー濃度解析 (CFCA) アッセイによって調べた。

【 0 7 6 7 】

SPRのため、抗マウスIgG捕捉表面チップ (Mouse Antibody Capture Kitタイプ2、カタログ番号29215281およびSeries S Sensor Chip CM5、カタログ番号29104988, GE Healthcare Bio-Sciences) を用いて抗ROR1 scFv-mFc結合ドメインをフローセル上に捕捉し、一方、別のフローセルは参照用にブランクのままにした。マルチサイクル速度論を、183、61.0、20.33、6.78および2.26nMの濃度での組換えヒトROR1の連続注入によって実行し、アクティブフローセルおよび参照フローセルにおいてともに可変的解

離を伴った。

【0768】

ROR1 ECDをscFv-mFc結合チップに複数種の濃度でマルチサイクル速度論を用いて注入した。1:1の一価モデルを使用してセンソグラム (sensogram) を解析し、相互作用の親和性および速度論の測定値を算出した。

【0769】

図22A～22Eは、抗ROR1 scFv ROR1-1 (SEQ ID NO:118; 図22A)、ROR1-2 (SEQ ID NO:127; 図22B)、ROR1-3 (SEQ ID NO:109; 図22C) およびROR1-4 (SEQ ID NO:134; 図22D) ならびに参照CAR R12のscFv抗原結合ドメイン (SEQ ID NO:142; 図22E) の二重参照センソグラムを示す。抗ROR1 scFv結合ドメインとROR1間の相互作用の親和性 (平衡解離定数 K_D) を表E3に示す。抗ROR1 scFv ROR1-1 (CAR-Fの結合ドメイン) とROR1間の相互作用の親和性 (平衡解離定数 K_D) は42nMであると測定され、相互作用の速度論結合速度定数 (k_a または k_{on} ; オンレート) および解離速度定数 (k_d または k_{off} ; オフレート) は、それぞれ $k_a=1.2 \times 10^5$ 1/Msおよび $k_d=5.0 \times 10^{-3}$ 1/sであることが観察された。抗ROR1 scFv ROR1-1 (CAR-Fの結合ドメイン) は、参照R12 scFv結合ドメインと比べて相対的に高い K_D (より低い親和性) およびより速いオフレート (k_d または k_{off}) を示した。抗ROR1 scFv ROR1-2 (CAR-Aの結合ドメイン) は、参照R12 scFv結合ドメインと比べて相当低い K_D (より高い親和性) およびより遅いオフレート (k_d または k_{off}) を示した。

【0770】

(表E3) 例示的な抗ROR1結合ドメインの親和性および結合速度論。

scFv #	R12	ROR1-1	ROR1-2	ROR1-3	ROR1-4
SEQ ID NO:	142	118	127	134	109
CAR	R12	CAR-F, CAR-G	CAR-A, CAR-R	CAR-B1	CAR-I
K_D (M)	9.420E-10	4.20E-08	9.57E-11	1.38E-08	9.24E-10
k_a または k_{on} (1/Ms)	6.14E+05	1.19E+05	4.12E+05	1.60E+04	1.17E+04
k_d または k_{off} (1/s)	5.79E-04	5.00E-03	3.94E-05	2.20E-04	1.08E-05

【0771】

B. エピトープマッピング

エピトープマッピング解析においてSPRを用い、例示的なROR1結合ドメインによって認識されるエピトープ結合領域を、抗ROR1参照R12結合ドメインのエピトープと比較した。参照R12 scFv結合ドメインを表面上に固定化し、ROR1 ECD 6×Hisを導入してR12結合ドメインに結合させ、例示的な抗ROR1 CARの組換えscFv結合ドメイン、例えば、scFv ROR1-1、ROR1-2、ROR1-3、およびROR1-4 (それぞれSEQ ID NO:118、127、109、および134に示される; CAR-A、CAR-F、CAR-G、CAR-I、CAR-RおよびCAR-B1のscFv結合ドメイン) を注入し、当該組換えscFvがR12の結合ドメインと同様のROR1領域に結合するかどうかを評価した。この結果により、ROR1 ECDへのscFv R12の結合は、候補抗ROR1のscFv結合ドメインROR1-1、ROR1-2、ROR1-3、およびROR1-4によるものと競合することが示され、候補scFv結合ドメインはR12の結合ドメインが結合するものと重複するエピトープまたは領域に結合し得るという観察結果と矛盾しなかった。

【0772】

実施例9: 抗ROR1抗原結合ドメインの抗原感度の評価

例示的な抗ROR1 CAR-Fを発現しているT細胞および抗ROR1参照CAR R12を発現しているT細胞の抗原感度を、ROR1の発現レベルが調節可能なROR1発現細胞株を用いた刺激後のサイトカイン産生能および細胞傷害活性について査定した。

【0773】

K562ヒト骨髄性白血病細胞株を、テトラサイクリン誘導体であるドキシサイクリン（TetOn）に应答してROR1を発現するように改変した。内因性ROR1発現細胞株と比べると、K562-ROR1-TetOn改変細胞株は、ベースラインにおいて、ドキシサイクリン処置なしであっても非常に低いレベルのROR1を発現した。

【0774】

2×10^4 個のK562-ROR1-TetOnまたは親K562標的細胞を、IncuCyte（登録商標）NucLight Redを安定的に発現するように形質導入した。R10培養培地（RPMI 1640； $1 \times$ BME； $1 \times$ NEAA、 $1 \times$ NaPyr；10%熱不活化FBS）を光学的に透明な96ウェル平底プレートに添加した。解凍したCAR発現T細胞を 1.6×10^6 個のCAR+細胞/mLの濃度でR10培地中に再懸濁させた。次いで、CAR-Tを、4:1のE:T比となるように 8×10^4 細胞/ウェルの最終CAR+T細胞カウント数でK562標的細胞に添加した。ドキシサイクリン塩酸塩を、DMSOを用いて所望の濃度（2ng/mL～512ng/mL）に希釈し、プレート内のCAR-T/標的細胞混合物に3つの技術的反復で添加した。プレートを37°C/5%CO₂で72時間インキュベートし、定期的にNucLight Redの蛍光を、IncuCyte（登録商標）を用いて測定した。

【0775】

図23に示されているように、ドキシサイクリン単独とのインキュベーション後のK562-ROR1-TetOn細胞におけるROR1の発現により、ドキシサイクリン濃度の増大に伴ってROR1の発現も増大することが示された。72時間のインキュベーション後、漸増濃度のROR1を発現しているK562-ROR1-TetOn標的細胞と混合しておいた、抗ROR1 CAR-Fまたは参照R12 CARを発現しているT細胞を含むウェルから、上清を収集した。図24に示されているように、CAR-F発現T細胞では、試験したすべてのROR1発現レベルで、R12発現細胞と比べて等価またはより多くのIFN γ 、IL-2、およびTNF α の産生がもたらされた。図25A～25Bに示されているように、経時的な赤色蛍光シグナルの消滅によって測定される細胞傷害機能の解析では、CAR-F発現細胞が、R12発現細胞と比べてより低いROR1レベルに対してより有効に应答することが示され、親細胞株に対する应答の欠如によって示されるように、特異性を損なうことなくより高い抗原感度を示された。

【0776】

実施例10：結合特異性の評価

例示的な抗ROR1 CAR-Fの結合ドメインの潜在的オフターゲット結合および種間交差反応性を種々の方法によって評価した。

【0777】

A. 原形質膜タンパク質アレイ

オフターゲット結合を、原形質膜タンパク質アレイに基づいて評価した。このチップベースのプラットフォームは、合わせるとヒト細胞外プロテオームの75%超を表す個々のヒト細胞外膜タンパク質を過剰発現するように遺伝子改変された4400を超える細胞群を含む。また、このパネルには1000を超えるテザリング型分泌タンパク質標的も含まれている。scFv-Fc（SEQ ID NO:118に示されるscFv配列）を生成し、アレイ内の細胞に対する免疫組織化学（IHC）に使用した。確認スクリーニングを行なった。scFvはROR1に対して高度に選択的であることが測定され、ROR2などに対する追加の特異的相互作用は認定されなかった。このような結果は、抗ROR1 CAR-F発現細胞のオフターゲット活性のリスクが低いことを示す。

【0778】

B. 種間交差反応性

表E4は、ヒト（Homo sapiens）、アカゲザル（Macaca mulatta）、カニクイザル（Macaca fascicularis）、およびマウス（Mus musculus）の間のROR1の細胞外ドメイン（ECD）の相同性を示す。ROR1は、ECDにおいてヒトおよび非ヒト霊長類の間で100%保存されている。

【0779】

（表E4）種間のROR1 ECDの相同性

10

20

30

40

50

	アカゲザル	カニクイザル	マウス
ヒト	100%	100%	98.7%

細胞外ドメイン：ヒトROR1のアミノ酸30～406

ホモサピエンス：Uniprot Q01973（SEQ ID NO:214に示されている）

アカゲザル：Uniprot F6RUP2（SEQ ID NO:215に示されている）

カニクイザル：Uniprot A0A2K5WTX7（SEQ ID NO:216に示されている）、Uniprot A0A2K5WTX4（SEQ ID NO:217に示されている）

マウス：Uniprot Q9Z139（SEQ ID NO:218に示されている）

【0780】

抗ROR1 CAR-FおよびR12 CARの種間交差反応性を、Nur77-tdTomatoレポーターを含み、抗ROR1 CAR-Fまたは参照R12 CAR（実施例1.Cにおいて上記のもの）を発現する改変Jurkat T細胞株を、マウスROR1（CT26-mROR1）を発現するように改変されたCT26マウス線維芽細胞、ヒトROR1（CT26-hROR1）を発現するように改変されたCT26細胞、または非改変CT26細胞もしくは非改変K562ヒト骨髄性白血病細胞と共培養し、レポーターの発現を評価することによって評価した。

【0781】

図26に示されているように、ヒトROR1とマウスROR1の間には98.7%の相同性がみられるが、マウスROR1発現標的細胞への抗ROR1 CAR-FまたはR12 CARの結合について、交差反応性は観察されなかった。

【0782】

本発明は、例えば、本発明の種々の局面を例示するために提供される特定の開示された態様に範囲が限定されることは意図されない。

記載される組成物および方法に対する種々の改変が本明細書における説明および教示から明らかになるであろう。かかる変形は、本開示の真の範囲および精神から逸脱することなく実施されてよく、本開示の範囲内に含まれることが意図される。

【0783】

配列

10

20

30

40

50

SEQ ID NO:	配列	説明
1	ESKYGPPCPPCP	スパーサー (IgG4 ヒンジ) (aa)
2	gaatctaagtagcgaccgcccctgcccccttgccct	スパーサー (IgG4 ヒンジ) (nt)
3	ESKYGPPCPPCPGQPPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS LGK	ヒンジ -C _H 3 スパーサー (aa)
4	GAATCTAAGTACGGACCGCCTTGCTCTCCATGTCCTGGCCAGCCAAGAGAACCCAGG TGTACACACTGCCTCCAAGCCAAGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTG CCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAG CCTGAGAACAACATAAGACCACACCTCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCC TGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAAGAGGGCAACGTGTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCTACACCCAGAAGTCTCTGAGCCTGAGC CTGGGCAAG	ヒンジ -C _H 3 スパーサー (nt)
5	RWPESPKAQASSVPTAQPOAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEKKKEKEKEEQEERET KTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGG VEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRLSLWNAAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAQAAP VKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPG STTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRLLNASRSLVSYVTDH	IgD-ヒンジ -Fc
6	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A
7	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFNCTSIISGDL HILPVAFRGDSFTHTPLDPQELDILKTVEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIR GRTKQHGGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVLIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSG QKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGREGVDKCNLLE GEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMG ENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCP TNGPKIPSIATGMV GALLLLLV VALGIGLFM	tEGFR
8	FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28(アクセシ ション番号 P10747の アミノ酸153~179)
9	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVT VAFIIFWV	CD28(アクセシ ション番号 P10747の アミノ酸114~179)
10	RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28(P10747の アミノ酸 180~220)
11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LLがGG)
12	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEGGCEL	4-1BB (Q07011. 1 の ア ミ ノ 酸 214~255)
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3 ζ
14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3 ζ
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3 ζ
16	RKVCNIGIGIGEFKDSLSINATNIKHFNCTSIISGDLHILPVAFRGDSFTHTPLDPQE LDILKTVEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGGQFSLAVVSLNITSLG LRSLEISDGDVLIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCH	tEGFR

10

20

30

40

50

	ALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPRFVENSECIQCHPECLPQ AMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPN CTYGCTGPGLEGCPINGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFM	
17	EGRGSLLTCDVEENPGP	T2A
18	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
19	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
20	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
21	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
22	PGGG- (SGGG) 5-P- (配列中、Pは プロリンであり、Gはグリシンであり、 Sはセリンである)	リンカー
23	GSADDAKKDAKKDGKS	リンカー
24	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	リンカー
25	X ₁ PPX ₂ P (X ₁ はグリシン、システインまたはアルギニンであり、X ₂ はシステインまたは トレオニンである)	ヒンジ
26	EPKSCDKTHTCPPCP	ヒンジ
27	ERKCCVECPPCP	ヒンジ
28	ELKITPLGDTHTCPRCEPKSCDTPPPCPRCEPKSCDTPPPCPRCEPKSCDTPPPCP RCP	ヒンジ
29	ESKYGPCCPSCP	ヒンジ
30	gagtctaaatacggaccgccttgctcctccttgctccc	スパーサー (IgG4ヒンジ) (nt) O/SSE
31	YGPPCPPCP	ヒンジ
32	KYGPPCPPCP	ヒンジ
33	EVVVKYGPCCPPCP	ヒンジ
34	ESKYGPCCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	ヒンジ-C _H 2- C _H 3 スパーサー (aa)
35	GAATCTAAGTACGGACCGCCTTGCTCCTCCATGCTCCTGCTCCTCCAGTTGCCGGACCTT CCGTGTTCTCTGTTTCTCCTCAAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCAGCAGAACCCCTGA AGTGACCTGCGTGGTGGTGAGCGTGTCCCAAGAGGATCTGAGGTGCAGTTCAACTGG TATGTGGACGGCGTGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCC AGAGCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGTGACACAGGATTGGCTGAACGG CAAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCTAGCAGCATCGAGAAAAACC ATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCC AAGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAGGGCTTCTACCC TTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACC ACACCTCCTGTGCTGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACAGCCGGCTGACCGTGG ACAAGAGCAGATGGCAAGAGGGCAACGTGTTAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCT GCACAACCACTACACCCAGAAGTCTCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAG	ヒンジ-C _H 2- C _H 3 スパーサー (nt)
36	ESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TPPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	ヒンジ-C _H 2- C _H 3 スパーサー (aa)
37	ESKYGPCCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YV DGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LD SDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	IgG4/IgG2 ヒンジ - IgG2/IgG4 C _H 2- IgG4 C _H 3 スパーサー (aa)
38	gaatctaagtaaggaccgcctgcctccctgcctgctcctcctgctggctggaccaa gcgtgttctcgttttccacctaagcctaagataccctgatgatttccgcacaccta agtgacttgctggtgctggacgtgagccaggaggatccagaagtgcagttcaactgg tacgtggacggcgtggaagtccacaatgctaagactaaaccccgagaggaaacagtttc agccaacttaccgggtcgtgagcgtgctgaccgtcctgcatcaggattggctgaacgg gaaggagtataagtgcaagtgtctaataagggaactgcctagctccatcgagaaaaa	IgG4/IgG2 ヒンジ - IgG2/IgG4 C _H 2- IgG4

10

20

30

40

	attagtaaggcaaaaaggcagcctcgagaaccacaggtgtataccctgccccctagcc aggaggaaatgaccaagaaccaggtgtccctgacatgtctggtcaaaggcttctatcc aagtgacatcgccgtggagtgggaatcaaatggcagcccgagaacaattacaagacc acaccaccctgctggactctgatggaagtttctttctgtattccaggtgaccgtgg ataaatctcgctggcaggagggaacgtgttctcttgagtgatgcacgaagccct gcacaatcattatacacagaagtcaactgagcctgtccctgggcaaa	C _H 3 スペーサー (nt)
39	GGGGS	4GS リンカー (aa)
40	GGGS	3GS リンカー (aa)
41	GGGSGGGSGGGGS	(4GS) ₃ リンカー (aa)
42	MPLLLLLLPLWAGALA	CD33 シグナル ペプチド
43	MVLQQTQVFISLLWISGAYG	ヒト IgG κ シグナル ペプチド (aa)
44	atggtgctgcagaccaggtgttcatcagcctgctgctgtggatctccggagcatacga ga	ヒト IgG κ シグナル配列 (nt)
45	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP	GMCSFR α 鎖シグナル ペプチド (aa)
46	atgcttctcctggtgacaagccttctgctctgtgagttaccacaccagcattcctcc tgatccca	GMCSFR α 鎖シグナル 配列 (nt)
47	MALPVTALLPLALLHA	CD8 α シグナル ペプチド
48	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	ヒト IgG2 Fc (Uniprot P01859)
49	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPCCPSCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLF PSQEQEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	ヒト IgG4 Fc (Uniprot P01861)
50	GYFTTSY	CDR-H1
51	GYFTTSYGIS	CDR-H1
52	SYGIS	CDR-H1
53	GYFTTSYG	CDR-H1
54	SAYNGN	CDR-H2
55	WISAYNGNTK	CDR-H2
56	WISAYNGNTKYAQKLQG	CDR-H2
57	ISAYNGNT	CDR-H2
58	DEDILTGYNYYGMDV	CDR-H3
59	ARDEDILTGYNYYGMDV	CDR-H3
60	TLSSGHSSYAIA	CDR-L1
61	SGHSSYA	CDR-L1
62	LNSDQSHSKGD	CDR-L2

10

20

30

40

50

63	LNSDGS	CDR-L2
64	QWGTGIRV	CDR-L3
65	GGISNY	CDR-H1
66	GGISNYWS	CDR-H1
67	NYWS	CDR-H1
68	GGISNY	CDR-H1
69	YTS	CDR-H2
70	RIYTS	CDR-H2
71	RIYTSNPNPSLKS	CDR-H2
72	IYTS	CDR-H2
73	YYDILTGFFDY	CDR-H3
74	ARYDILTGFFDY	CDR-H3
75	RMSQDISSYA	CDR-L1
76	QDISSY	CDR-L1
77	AASSLQS	CDR-L2
78	AAS	CDR-L2
79	QQYDFPPT	CDR-L3
80	GGISNTIS	CDR-H1
81	GGISNTISYA	CDR-H1
82	STISYA	CDR-H1
83	GGISNTISY	CDR-H1
84	FYSK	CDR-H2
85	TIFYSGKTY	CDR-H2
86	TIFYSGKYNNPNPSLKS	CDR-H2
87	IFYSGKT	CDR-H2
88	FDYGFHDAFDI	CDR-H3
89	AREDYGFHDAFDI	CDR-H3
90	RASQSITSDYLS	CDR-L1
91	QSITSDY	CDR-L1
92	GASTRAT	CDR-L2
93	GAS	CDR-L2
94	QQDYNLYT	CDR-L3
95	SAYTGN	CDR-H2
96	WISAYTGNT	CDR-H2
97	WISAYTGNTYAQKLQ	CDR-H2
98	ISAYTGNT	CDR-H2
99	EEGATTDYDYGMV	CDR-H3
100	AREEGATTDYDYGMV	CDR-H3
101	CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGG TCTCCTGCAAGGCTTCTGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACA GGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACA AAGTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGC GAGAGATGAGGATATTTGACTGGTTACAATACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAA GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA	V _H (nt)
102	caggtgcagctggttcaatctggcgccgaagtgaagaaaccaggcgccctctgtgaagg tgtcctgcaaggccagcggtacacctttaccagctacggcatcagctgggtccgaca ggctcctggacaaggcttggaatggatgggctggatcagcgctacaacggcaacacc aaatacgcccagaaactgcagggcagagtgaccatgaccaccgacaccagcacaagca ccgcctacatggaactgcggagcctgagatccgatgacaccgccgtgtactactgcgc cagagatgaggacatcctgaccggctacaactactacggcatggacgtgtggggccag ggcacaacagtgacagtttcttct	V _H (nt) O/SSE
103	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNT KYAQLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDEDILTGYNYGMVWVGQ GTTVTVSS	V _H (aa)

10

20

30

40

50

104	CAGCTTGTGCTGACTCAATCGCCCTCTGCCTCTGCCTCCCTGGGAGCCTCGGTCAAGC TCACCTGCACTCTGAGCAGTGGGCACAGCAGCTACGCCATCGCATGGCATCAGCAGCA GCCAGAGAAGGGCCCTCGGTACTTGATGAAGCTTAACAGTGATGGCAGCCACAGCAAG GGGGACGGGATCCCTGATCGCTTCTCAGGCTCCAGCTCTGGGGCTGAGCGCTACCTCA CCATCTCCAGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGACTATTACTGTGACACCTGGGGCAC TGGCATTGCGGTGTTTCGGTGGAGGAACCAAAGTACTGTCTTAGGC	V _L (nt)
105	caactggtgctgacacagctctcctagcgcctctgcttctctgaggagccagcgtgaagc tgacctgtacactgtctagcggccacagcagctacgccattgcttggcatcagcagca gcccagagaagggccctagatacctgatgaagctgaacagcgacggcagccactctaaa ggcgacggcatccccgatagattcagcggcagttctagcggagccgagcgtacctga caatcagctctctgcaatccgaggacgagggcgactactactgtcagacatggggcac cggcatcagagtgtttggcggaggcaccaagctgacagtgtcttggga	V _L (nt) O/SSE
106	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSGHSSYAIAWHQQQPEKGPRYLMKLNDSGSHSK GDGIPDRFSGSSSSGAERYLTISSLQSEDEADYYCQTWGTGIRVFGGGTKLTVLG	V _L (aa)
107	CAGGTTGAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGG TCTCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACA GGCCCTTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACA AAGTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGC GAGAGATGAGGATATTTTGACTGGTTACAATACTACTACGGTATGGACGCTCTGGGGCAA GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTG GTGGTGGATCCCAGCTTGTGCTGACTCAATCGCCCTCTGCCTCTGCCTCCCTGGGAGC CTCGGTCAAGCTCACCTGCACTCTGAGCAGTGGGCACAGCAGCTACGCCATCGCATGG CATCAGCAGCAGCCAGAGAAGGGCCCTCGGTACTTGATGAAGCTTAACAGTGATGGCA GCCACAGCAAGGGGGACGGGATCCCTGATCGCTTCTCAGGCTCCAGCTCTGGGGCTGA GCGGTACCTCACCATCTCCAGCCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGACTATTACTGTGAG ACCTGGGGCACTGGCATTGCGGTGTTCGGTGGAGGAACCAAAGTACTGTCTTAGGC	scFv (V _H -V _L) (nt)
108	caggtgcagctggttcaatctggcgccgaagtgaagaaaccagcgccctctgtgaag tgtcctgcaagggcagcggtacacctttaccagctacggcatcagctgggtccgaca ggctcctggacaaggcttggaaatggatgggctggatcagcgccctacaacggcaacacc aaatacggccagaaactgcagggcagagtgacctgaccaccgacaccagcacaagca ccgcctacatggaactgcggagcctgagatccgatgacaccgccgtgtactactgcgc cagagatgaggacatcctgaccggctacaactactacggcatggacgtgtggggccag ggcacaacagtgacagtttcttctggcggcgaggatctggcggaggtggaagcggag gcggtggatctcaactggtgctgacacagctctcctagcgcctctgcttctctgggagc cagcgtgaagctgacctgtacactgtctagcggccacagcagctacgccattgcttgg catcagcagcagcccgagaagggccctagatacctgatgaagctgaacagcgacggca gccactctaaagggcagcgcatccccgatagattcagcggcagttctagcggagccga gcgctacctgacaatcagctctctgcaatccgaggacgagggccgactactactgtcag acatgggggacccggcatcagagtgtttggcggaggcaccaagctgacagtgtcttggga	scFv (V _H -V _L) (nt) O/SSE
109	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNT KYAQKLQGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDIEDILTGYNYYGMDVWGQ GTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSGHSSYAIAW HQQQPEKGPRYLMKLNDSGSHSKGDGIPDRFSGSSSSGAERYLTISSLQSEDEADYYCQ TWGTGIRVFGGGTKLTVLG	scFv (V _H -V _L) (aa)
110	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCC TCACCTGCACTGTCTCTGAGGCTCCATCAGTAATTACTACTGGAGCTGGATCCGGCA GCCCGCCGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGCGTATCTATACCAGTGGGAGCACCAAC TACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATGTGAGTAGACAGTCCAAGAACCAGT TCTCCTGAAGCTGAGTTCTTTGACCGCCGCGGACACGGCCATATATTACTGTGCGAG GTATTACGATATTTTACTGTTTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACC GTCTCTCA	V _H (nt)
111	Caggttcagctgcaagagtctggccctggcctggtcaagcctagcgaaacactgagcc tgacctgtacctgtctggcggcagcatctccaactactactggtcctggatcagaca gcctgcggcgaaggcctggaatggatcggcagaatctacaccagcggcagcaccac tacaaccccagcctgaagtccagagtgacctgagcgtggacaccagcaagaaccagt tctcctgaagctgagcagcctgacagccgcgataccgccatctactactgtgccg gtactacgatatcctgaccggcttcttcgactactggggccagggaaacactggtcaca gtttctagc	V _H (nt) O/SSE

10

20

30

40

112	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SNYYWSWIRQFAGKGLEWIGRIYTSGSTN YNPSLKSRTMSVDTSKNQFSLKLSSSLTAADTAIYYCARYYDILTGFFDYWGQGLT VSS	V _H (aa)
113	GTCATCTGGATGACCCAGTCTCCATCCTTACTCTCTGCATCTACAGGAGACAGTGTCA CCATCAGTTGTGCGATGAGTCAGGACATTAGCAGTTATTTAGCCTGGTATCAGCAAAA ACCAGGGAAGCCCTGAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTC CCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGTTCCC TGCACTCTGAAGATTTTGCTACTTATTACTGTCAACAGTATGATAGTTTCCCTCCGAC GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAATTCAAACGG	V _L (nt)
114	Gtgatttgatgacacagagccctagcctgctgagcgccagcacaggcgatagcgtga ccatcagctgcagaatgagccaggacatcagcagctacctggcttggtatcagcagaa gcctggcaaggccctgaactgctgatctatgccgcttccagctctgcagagcggtg ccatctagattttccggcagcggtctggcaccgacttcacccctgacaatcagctccc tgagctccgaggacttcgccacctactattgccagcagtagcacagcttccctccaac ctttggccaggcgacccaaggtggaattcaagcgc	V _L (nt) O/SSE
115	VIWMTQSPSLLSASTGDSVTISCRMSQDISSYLAWYQQKPKAPELLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSFPPITFGQGTKVEFKR	V _L (aa)
116	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCC TCACCTGCACTGTCTCTGGAGGCTCCATCAGTAATTACTACTGGAGCTGGATCCGGCA GCCGCCCGGAAGGAGTGGAGTGGATTGGGCGTATCTATACCAGTGGGAGCACCAAC TACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATGTCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGT TCTCCCTGAAGCTGAGTTCTTTGACCGCCGCGGACACGCCATATATTACTGTGCGAG GTATTACGATATTTGACTGGTTTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACC GTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCGTCA TCTGGATGACCCAGTCTCCATCCTTACTCTCTGCATCTACAGGAGACAGTGTACCAT CAGTTGTGCGATGAGTCAGGACATTAGCAGTTATTTAGCCTGGTATCAGCAAAAACCA GGGAAAGCCCTGAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCAT CAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGTTCCCTGCA GTCTGAAGATTTTGCTACTTATTACTGTCAACAGTATGATAGTTTCCCTCCGACGTT GGCCAAGGGACCAAGGTGGAATTCAAACGG	scFv (V _H -V _L) (nt)
117	caggttcagctgcaagagtctggccctggcctggtcaagcctagcgaacactgagcc tgacctgtaccgtgtctggcgagcagatctccaaactactactggtcctggatcagaca gcctgcccggcaaaggcctggaatggatcggcagaatctacaccagcgccagcaccac tacaacccagcctgaagtcagagtgacctgagcgtggacaccagcaagaaccagt tctccctgaagctgagcagcctgacagccgagataccgcatctactactgtgcccg gtactacgatatcctgaccggttcttcgactactggggccagggaacactggtcaca gtttctagcggaggcgaggatctggtggcgagggaagtggcgaggcggttctgtga tttggatgacacagagccctagcctgctgagcgccagcacaggcgatagcgtgacct cagctgcagaatgagccaggacatcagcagctacctggcttggtatcagcagaagcct ggcaaggccctgaactgctgatctatgccgcttccagctctgcagagcggtgcca ctagattttccggcagcggtctctggcaccgacttcacccctgacaatcagctccctgca gtccgaggacttcgccacctactattgccagcagtagcacagcttccctccaacctt ggccaggcgacccaaggtggaattcaagcgc	scFv (V _H -V _L) (nt) O/SSE
118	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SNYYWSWIRQFAGKGLEWIGRIYTSGSTN YNPSLKSRTMSVDTSKNQFSLKLSSSLTAADTAIYYCARYYDILTGFFDYWGQGLT VSSGGGGGGGGGGGGSVIWMQSPSLLSASTGDSVTISCRMSQDISSYLAWYQQKPK GKAPPELLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSFPPITF GQGKVEFKR	scFv (V _H -V _L) (aa)
119	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCC TCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAACAGTACTACTTCTACTGGGCTGGAT CCGCCAGCCCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGATTGGGACTATCTTTATAGTGGGAAA ACCTACAACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATGTCCGTAGACACGTCCAAGA ACCACTTCTCCCTGAAGGTGAACCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTACTG TGCAGGTTTGACTACGGTTTTTCATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAGGGGACAATG GTACACCTCTCTTCA	V _H (nt)
120	cagctccagctgcaagaatctggacctggcctggtcaagcccagcgagacactgtctc tgacctgtacagtgctccggcgagcagatcaatagcaccacaagctactggcctggat cagacagcctcctggcaaaggcctggaatggatcggcaccatcttctacagcggaag acctacaacaacccagcctgaagtcagagtgacctgagcgtggacaccagcaaga accacttcagcctgaaagtgaacagcgtgacagcccgataccgctgtactactg	V _H (nt) O/SSE

10

20

30

40

	cgccagattcgactacggcttccacgacgccttcgacatctggggccagggcacaatggtcacagtttctagc	
121	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSINSTTSYWAWIRQPPGKLEWIGTIFYSGKTYNNPSLKSRTVMSVDTSKNHFSLVKNSVTAADTAVYYCARFDYGFHDAFDIWGQGTMTVSS	V _H (aa)
122	GAAATTGTAATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTATTACCAGCGACTACTTATCCTGGTACCAACA AAAACCTGGGCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGATCCACCAGGGCCACTGGC ATCCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCA GCCTGCAGCCTGAAGATTTTGTAGTTTATTACTGTGACGAGGATTATAACTTGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGG	V _L (nt)
123	gagatttgtgatgacacagagccccgcactctgagccttagtcctggcgaaagagcca cactgagctgcagagccagccagagcatcaccagcgattacctgagctggtatcagca gaagcccgagcaggtcccagactgctgatctatggcgctctacaagagccaccggc attcccgcccgcttttctggctctggaagcggcaccgacttcacctgaccatatcta gcctgcagcctgaggacttcgtggtgtactattgccagcaggactacaacctgtacac cttcggccaggggaccaagctggaaatcaagaga	V _L (nt) O/SSE
124	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIITSYLSWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFVYVYCCQDYNLYTFGGQGTKLEIKR	V _L (aa)
125	CAGCTGCAGCTGCAGAGTTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCC TCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAACAGTACTACTTCTACTGGGCCTGGAT CCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGACTATCTTTATAGTGGGAAA ACCTACAACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATGTCCGTAGACACGTCCAAGA ACCACTTCTCCCTGAAGGTGAAGTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTACTG TGCAGGTTTGACTACGGTTTTTCATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAGGGGACAATG GTACCGTCTCTTCAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGGCTCTGGTGGTGGTGGAT CCGAAATTGTAATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGC CACCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTATTACCAGCGACTACTTATCCTGGTACCAA CAAAAACCTGGGCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTG GCATCCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGTAGTTTATTACTGTGACGAGGATTATAACTTGTAC ACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGG	scFv (V _H -V _L) (nt)
126	Cagctccagctgcaagaatctggacctggcctggtcaagcccagcgagacactgtctc tgacctgtacagtgctccggcgagcatcaatagcaccacaagctactggcctggtat cagacagcctcctggcaagcctggaatggatcggcaccatcttctacagcggcaag acctacaacaaccccagcctgaagtccagagtaccatgagcgtggacaccagcaaga accacttcagcctgaaagtgaacagcgtgacagccgcgataaccgctgtactactg cgccagattcgactacggcttccacgacgccttcgacatctggggccagggcacaatg gtcacagtttctagcggaggcgaggatctggtggcgagggaagtggcgaggcggtt ctgagatttgtgatgacacagagccccccactctgagccttagtcctggcgaaagagc cacactgagctgcagagccagccagagcatcaccagcgattacctgagctggtatcag cagaagcccggacaggtcccagactgctgatctatggcgctctacaagagccaccg gcattcccgcgcgttttctggctctggaagcggcaccgacttcacctgaccatatc tagcctgcagcctgaggacttcgtggtgtactattgccagcaggactacaacctgtac accttcggccaggggaccaagctggaaatcaagaga	scFv (V _H -V _L) (nt) O/SSE
127	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSINSTTSYWAWIRQPPGKLEWIGTIFYSGKTYNNPSLKSRTVMSVDTSKNHFSLVKNSVTAADTAVYYCARFDYGFHDAFDIWGQGTMTVSSGGGGSGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIITSYLSWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFVYVYCCQDYNLYTFGGQGTKLEIKR	scFv (V _H -V _L) (aa)
128	CAGGTTCACTGCTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGG TCTCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACA GGCCCTTGGACAAGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACACTGGTAACACA AGGTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGC GAGAGAAGAAGGAGCTACTACGGACTACGACTACTACGGTATGGAGCTCTGGGGCCAA GGGACTGCGGTCACCGTCTCTCTCA	V _H (nt)
129	caggttcagctgcttcagctctggcgccgaagtgaagaaacctggcgctctgtgaagg tgtcctgcaaggccagcggctacacctttaccagctacggcatcagctgggtccgaca ggctcctggacaaggcttggaatggatgggctggatcagcgcctacaccggcaatacc	V _H (nt) O/SSE

10

20

30

40

	agatacgcgccagaaactgcagggcagagtgacctgaccaccgacaccagcacaagca ccgcctacatggaactgcggagcctgagatccgatgacaccgcctgtactactgcgc cagagaagaaggcgccaccaccgactacgactactacggcatggatgtgtggggccag ggaacagccgtgacagtttcttct	
130	QVQLLQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYTGNT RYAQLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREEGATTDYDYYGMDVWGQ GTAVTVSS	V _H (aa)
131	caactgggttctgacacagagcccaagcgctctgcatctctgggagcttccgtgaagc tgacctgcacactgtctagcggccacagcagctatgccattgcctggcatcagcaaca gcccagagaaggccctagatacctgatgaagctgaacagcgacggcagccactctaaa ggcgacggcatccccgatagattcagcggcagttctagcggagccgagcgctacctga caatcagctctctgcaatccgaggacgaggccgattactactgtcagacatggggcac cggcatcagagtggttggcgccggaacaaagctgaccgtgctgggc	V _L (nt) O/SSE
132	CAGGTTACAGTCTGCTGAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGG TCTCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACA GGCCCCCTGGACAAGGCTTGTAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACACTGGTAACACA AGGTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCA CAGCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGC GAGAGAAGAAGGAGCTACTACGGACTACGACTACTACGGTATGGACGCTCTGGGGCCAA GGGACTGCGGTACCCGCTCTCCTCAGGTGGTGGTGGTAGCGCGCGCGCGGCTCTGGTG GTGGTGGATCCCAGCTTGTGCTGACTCAATCGCCCTCTGCCTCTGCCTCCCTGGGAGC CTCGGTCAAGCTCAGCTGCACTCTGAGCAGTGGGCACAGCAGCTACGCCATCGCATGG CATCAGCAGCAGCCAGAGAAGGGCCCTCGGTACTTGATGAAGCTTAACAGTGATGGCA GCCACAGCAAGGGGGACGGGATCCCTGATCGCTTCTCAGGCTCCAGCTCTGGGGCTGA GCGCTACCTCACCATCTCCAGCCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGACTATTACTGTGAG ACCTGGGGCACTGGCATTTCGGGTGTTTCGGTGGAGGAACCAAAGTACTGCTCCTAGGC	scFv (V _H -V _L) (nt)
133	caggttcagctgcttcagctctggcgccgaagtgaagaaacctggcgctctgtgaagg tgtcctgcaaggccagcggtctacacctttaccagctacggcatcagctgggtccgaca ggctcctggacaaggcttggaatggatgggtggatcagcgctacaccggcaataacc agatacgcgccagaaactgcagggcagagtgacctgaccaccgacaccagcacaagca ccgcctacatggaactgcggagcctgagatccgatgacaccgcctgtactactgcgc cagagaagaaggcgccaccaccgactacgactactacggcatggatgtgtggggccag ggaacagccgtgacagtttcttctgggtggcggaggatctggcggaggtggaagcggcg gaggcggatctcaactggttctgacacagagcccaagcgctctgcatctctgggagc ttccgtgaagctgacctgcacactgtctagcggccacagcagctatgccattgcctgg catcagcaacagcccagagaaggccctagatacctgatgaagctgaacagcgacggca gccactctaaaggcgacggcatccccgatagattcagcggcagttctagcggagccga cgctacctgacaactcagctctctgcaatccgaggacgaggccgattactactgtcag acatggggcaccggcatcagagtggttggcgccggaacaaagctgaccgtgctgggc	scFv (V _H -V _L) (nt) O/SSE
134	QVQLLQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYTGNT RYAQLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREEGATTDYDYYGMDVWGQ GTAVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSGHSSYAIWA HQQQPEKGPRLMKLNSDGSLSKGDGIPDRFSGSSSGAERYLTISSLQSEDEADYYCQ TWGTGIRVFGGGTKLTVLG	scFv (V _H -V _L) (aa)
135	ESKYGPCCPPCPM	IgG4 ヒンジ スパーサー(aa)
136	gagtctaaatacggacgccttgctcctccttgctcccatg	IgG4 ヒンジ スパーサー(nt) O/SSE
137	gagtctaaatacggaccgccttgctcctccttgctccggccagccaagagagccccagg tttacacactgcctccaagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatg cctgggtcaagggcttctaccctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccag cctgagaacaactacaagaccacacctctgtgctggacagcgacggcagtttcttcc tgtatagttagactcaccgtggataaatcaagatggcaagagggcaacgtgttcagctg cagcgtgatgcacgagggcctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtct ctgggcaag	ヒンジ-C _{H3} スパーサー(nt) O/SSE
138	ESKYGPCCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKITTTPVLDSGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS LGKM	ヒンジ-C _{H3} スパーサー(aa)

10

20

30

40

50

139	gagctctaaatcaggaccgccttgtcctccttgtcccgccagccaagagagccccagg tttacacactgcctccaagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatg cctgggtcaagggcttctaccctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccag cctgagaacaactacaagaccacacctcctgtgctggacagcgacggcagtttcttcc tgtatagtagactcacogtggataaatcaagatggcaagagggaacogtgttcagctg cagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaaaaagcctgagcctgtct ctgggcaagatg	ヒンジ-C _H 3 スペーサー(nt) O/SSE
140	gagctctaaatcaggaccgccttgtcctccttgtcccgctcctcctgttgccggacctt ccgtgttctcgttttctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcaggaccctga agtgacctgctggtggtggtgatgtgtcccaagaggatcccgaggtgcagttcaactgg tatgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaaacagttcc agagcacctacagagtggtgtccgtgctgacagtgctgcaccaggattggctgaacgg caaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggcctgcctagcagcatcgagaaaaacc atctccaaggccaaggccagccaagagagcccgagtttacacactgcctccaagcc aagaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctggtaagggttcttacc ctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagacc acacctcctgtgctggacagcgacggcagtttcttccctgtatagtagactcacctgg ataaatcaagatggcaagagggaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccct gcacaaccactacaccagaaaaagcctgagcctgtctctgggcaag	IgG4/IgG2 ヒンジ- IgG2/IgG4 C _H 2- IgG4 C _H 3 スペーサー (nt) O/SSE
141	cttgaaggtggtggcgaaggcagaggcagcctgcttacatgaggagatgtggaagaga accccgaccta	T2A (nt) O/SSE
142	QEQLVESGGRRLVTPGGSLTLCKASGFDLSAYMSWVRQAPGKLEWIATIPSSGKT YYATWVNGRFTISSDNAQNTVDLQMNLSLAADRATYFCARDSYADDGALFNIWGPRTL VTISSGGGGSGGGSGGGGSELVLTQSPSVSAALGSPAKITCTLSAHKTDIDWYQQ LQGEAPRYLMQVQSDGSYTKRPGVPDRFSGSSSGADRYLIIPSVQADDEADYYCGADY IGGYVFGGGTQLTIVTG	R12 V _H -V _L scFv (aa)
143	caagaacagctggtggaatctggcgccagactggttacacctggcggaagcctgacac tgagctgtaaagccagcggcttcgacttcagcgccactactacatgagctgggtccgaca ggccctcgcaaaaggactggaatggatcgccacaatctacccagctccggcaagacc tactacgccacatgggtcaacggccggttcaccatcagcagcgacaacgccagaaca ccgtggacctgcagatgaactctctgacagcccgccagccggccacctacttttgtgc cagagatagctacgcccagcagcgcccgccctgtcaatatttggggacctggcacactc gtgacctctctagcggaggcggaggaaagtggggcgaggatcaggcgggtggtggat ctgaactggtgctgacacagagccctctgtgtctgctgctctgggaagccctgccaa gatcacatgtacctgagcagcgcccacaagaccgacaccatcgactggtatcagcag ctgcagggcgaagccctagatacctgatgcaggttcagagcgacggcagctacacca aaagacctggcgtgcccgatagattcagcggcagttcttctggcgccgatcgctacct gatcatcctctctgtgcaagccgacgatgaggccgactattactcggaagccgattac atcgccggctacgttttcgggtggcgccacacagttgacagtgacaggcg	R12 V _H -V _L scFv (nt)
144	QETELSVSAELVPTSSWNISSELNKSYLELDEPMNNITSLGQTAEHLCKVSGNPPP TIRWFKNDAPVVQEPRLSFRSTIYGSRRLRIRNLDTDTGYFQC VATNGKEVVSSTGV LFVKFGPPPTASPGYSDEYEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESLHMQGEIENQIT AAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSSVPKPRDLRDECEILENVLCQ TEYIFARSNPMLMLRLKLPNCEDLPQESPEAANCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGV DYRGTVSVTKSGRQCQPNWSQYPHTHTFTALRFPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWCFTL DENFKSDLCDIPACDSKDSKEKNKMEILYLVP SVAIPLAIALLEFFICVCRNNQKSS SAPVQRQPKHVRGQNVEMSLNAYKPKSKAKELPLSAVRFMEELGECAFGLIYKGLHY LPGMDHAQLVAIKTLKDYNNPQQWTEFQQEASLMAELHHPNIVCLLGAVTQE QPVCML FEYINQGDLEHFLIMRSPHSDVGCSSDEDGTVKSSLDHGDFLHIAIQIAAGMEYLSH FFVHKDLAARNILIGEQLHVKISDLGLSREIYSADYRVSQSKSLP IRWMPPEAIMYG KFSSDSDIWSFGVVLWEIFSGFLQPYYGFSNQEVIEVMVRKQLLPCEDCPPRMYSLM TECWNEIPSRRPRFKDIHVRLSWEGLSSTSTTPSGGNATTQTSLASPVSNLSN PRYPNYMFPSQGITPQGGIAGFIGPP IPQNQRFIPI NGYIPPGYAAFPAAHYQPTGP PRVIQHCPPPKSRSPSSASGSTSTGHVTS LPSGSGNQEANIPLLPHMSIPNHPGGMGI TVFNGKSQKPKIDSKQASLLGDANIHGHTESMISAE L	ヒ ト ROR1 (aa) GenBank: AAA60275.1
145	QETELSVSAELVPTSSWNISSELNKSYLELDEPMNNITSLGQTAEHLCKVSGNPPP TIRWFKNDAPVVQEPRLSFRSTIYGSRRLRIRNLDTDTGYFQC VATNGKEVVSSTGV LFVKFGPPPTASPGYSDEYEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESLHMQGEIENQIT AAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSSVPKPRDLRDECEILENVLCQ TEYIFARSNPMLMLRLKLPNCEDLPQESPEAANCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGV	ヒ ト ROR1 アイソフォーム 2 (aa)

10

20

30

40

	DYRGTVSVTKSGRQCQPWNSQYPHTHTFTALRFPPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWCFTL DENFKSDLCDIPACDSKDSKEKNKMEILYIILVPSVAIPLAIALLFFFICVCRNNQKSS SAPVQRQPKHVRGQNVEMSLNAYKPKSKAKELPLSAVRFMEELEGCAFVKIYKGLHY LPGMDHAQLVAIKITLKDYNPQQWTEFQQEASLMAELHHPNIVCLLGAVTQEQPVC	
146	QETELSVSAELVPTSSWNISSELNKDSYLTLEDEPMNNITTSLGQTAELHCKVSGNPPP TIRWFKNDAPVVQEPRRLSFRSTIYGSRLRIRNLDTDTGYFQCVATNGKEVVSSTGV LFVKFGPPPTASPGYSDEYEEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESLHMQGEIENQIT AAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSSVPKPRDLCRDECEILENVLCQ TEYIFARSNPMLMRLKLPNCEDLPQESPEAANCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGV DYRGTVSVTKSGRQCQPWNSQYPHTHTFTALRFPPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWCFTL DENFKSDLCDIPACGK	ヒト ROR1 アイソフォーム 3 (aa)
147	atgttttgggtgctggctggtcggtcgaggggtgctggcctgttacagcctgctggtga cagtcgctttcatcatcttctgggtg	CD28 膜貫通 ドメイン (nt)
148	atgttctgggtgctcggtgctgtggcgagtgctggcctgttacagcctgctggtta ccgtggccttcatcatcttctgggtc	CD28 膜貫通 ドメイン (nt) (O/SSE)
149	MFVVLVVVGGVVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 膜貫通 ドメイン (aa)
150	agagtgaagttcagcagatccgccgacgctccagcctatcagcagggccaaaaccagc tgtacaacgagctgaacctggggagaagagaagagtagcagcgtgctggataagcggag aggcagagatcctgaaatggcggaagccagacggaagaatcctcaagagggcctg tataatgagctgcagaaagacaagatggccgagggcctacagcagatcggaatgaagg gcgagcgcagaagaggcaaggacacgatggactgtaccagggcctgagcaccgccac caaggatacctatgaacgactgcacatgcaggccctgccacctaga	CD3ζ 由来 細胞内 シグナル 伝達ドメイン (nt) (O/SSE)
151	atgcttctcctggtgacaagccttctgctctgtgagttaccacacccagcattcctcc tgatcccacgcaaaagtgtgtaacggaataggtatttggtgaatttaaagactcactctc cataaatgctacgaaatattaacacattcaaaaactgcacctccatcagtggtgctctc cacatcctgcccgtggcatttaggggtgactccttcacacatactcctcctctggatc cacaggaactggatattctgaaaaccgtaaaaggaaatcacaggggttttctgctgattca ggcttggcctgaaaacaggaacgacctccatgccttggagaacctagaatcatacgc ggcaggaccaagcaacatggctcagtttctcttgacgtcgtcagcctgaacataacat ccttgggattacgctccctcaaggagataagtgtgagatgtgataatttcaggaaa caaaaatttgtgctatgcaaatacaataaaactggaaaaaactgttgggacctccggt cagaaaaacaaaaattataagcaacagaggtgaaaacagctgcaaggccacagggccagg tctgccatgccttgtgctcccccaggggctgctggggcccgagccagggactgcgt ctcttgccggaatgtcagccgagggcaggggaatgcgtggacaagtgcaaccttctggag ggtgagccaagggagtttgggagaactctgagtgcatacagtgccacccagagtgcc tgccctcaggccatgaacatcacctgcacaggacggggaccagacaactgtatccagtg tgcccatcattgacggccccactgcgtcaagacctgcccggcaggagtcagggga gaaaaacaacacctgggtctggaagtacgcagacgcccggccatgtgtgccacctgtgcc atccaaactgcacctacggatgactgggcccaggtcttgaaggctgtccaacgaatgg gcctaagatcccgtccatgccactgggatggtgggggcccctcctcttctgctgctggtg gtggccctggggatcggcctcttcatgtga	短縮型 EGFR (tEGFR) 配列 (nt)
152	atgctgctcctcgtgacaagcctgctcctgtgtgtaactccctcatccagcttttctgc tcattcctcggaagtgtgcaacggcatcgcatcgagagttcaaggacagcctgag catcaatgccaccaacatcaagcattcaagaattgcaccagcatcagcggcgacctg cacattctgcctgtggcctttagagggacagcttccccacacacctccactggatc cccaagagctggatcctgaaaaccgtgaaagagattaccggattcctcctgatcca agcctggccagagaaacagaaccgatctgcacgccttcgagaacctcgagatcatcaga ggccggacaaaacagcagcagcttagcctggctgtggtgtctctgaacatacca gtctgggctgagaagcctgaaagaaatctccgacggcagctgatcatctccgaaa caagaacctgtgtacgccaacaccatcaactggaagaagctgttcggcacctccggc cagaaaaaaagatcatcttaaccggggcgagaacagctgcaaggccaccggacaag tttgtcacgacctgtgtagccctgaaggctgttggggacccgaacctagagactgtgt gtcctgccggaatgtgtccggggcagagaatgtgtggataagtgaacctgtggaa ggcgagccccgcgagtttgggaaaacagcagtgcatccagtgtcaccgccagtgctc	短縮型 EGFR (tEGFR) 配列 (nt) (O/SSE)

10

20

30

40

50

	tgccccaggccatgaacattacatgcaccggcagaggccccgacaactgtattcagtg cgcccactacatcgacggccctcactgcgtgaaaacatgtccagctggcgtgatggga gagaacaacaccctcgtgtggaagtatgccgacgccggacatgtgtgccacctgtgtc accctaattgcacctacggctgtaccggacctggcctggaaggatgccctacaaacgg ccctaagatccccagcattgccaccggaatggttggagccctgctgcttctgttggtg gtggccctcggaatcgccctgttcatgtga	
153	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFNKNTSISGDL HILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIR GRTKQHGGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVVISGNKNLCYANTINWKKLFGTSG QKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGECVDKCNLLE GEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMG ENNITLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCTNGPKIPSATGMVALLLLLV VALGIGLFLM	短縮型 EGFR (tEGFR) 配列 (aa)
154	aagcggggggagaaagaaactgctgtatatatttcaaacagccctttatgagacctgtgc agactaccagggaggaagacggatgcagctgtaggtttcccagggaagaggaaggagg ctgtgagctg	4-1BB 細胞内共 シグナル伝達 配列 (nt)
155	aagcgggggcagaaagaagctgctctacatcttcaagcagcccttcatgcggccctg agaccacacaagaggaagatggctgctcctgcagattccccagggaagaagaaggcgg ctgcgagctg	4-1BB 細胞内共 シグナル伝達 配列 (nt) - (O/SSE)
156	caggttcagctgcaagagtctggccctggcctggcgaagcctagcgaacactgagcc tgacctgtacogtgtctggcggcagcatotccaaactactactggtcctggatcagaca gcctgcggcgaagggcctggaatggatcggcagaatctacaccagcggcagcaccac tacaacccccagcctgaagtccagagtacccatgagcgtggacaccagcaagaaccagt tctccctgaagctgagcagcctgacagccgcgataccgccatctactactgtgcccg gtactacgatatcctgaccgcttcttcgactactggggccagggaacactggtcaca gtttctagcggaggcggaggatctggtggcggagggaagtggcggaggcgggttctgtga tttggtatgacacagagccctagcctgctgagcggcagcacaggcgatagcgtgacct cagctgcagaatgagccaggacatcagcagctacctggccttggtatcagcagaagcct ggcaagggccctgaactgctgatctatgccgcttccagctctgcagagcggcgtgccat ctagattttccggcagcggctctggcaccgacttcacctgacaatcagctccctgca gtccgaggacttcgccacctactattgccagcagtagcacagcttccctccaaccttt ggccagggcaccaaggtggaattcaagcgcgagtctaaatacggaccgccttgtcctc cttgtcccatgttctgggtgctcgtggtcgttggcggagtgtggcctgttacagcct gctgggttacogtggccttcacatcttcttgggtcaagcggggcagaaagaagctgctc tacctcttcaagcagcccttcatgcggccctgcagaccacacaagaggaagatggct gctcctgcagattccccagggaagaagaaggcggctgcgagctgagagtgaagttcag cagatccgcgcagcctccagcctatcagcagggccaaaaccagctgtacaacgagctg aacctggggagaagagaagagtacgacgtgctggataagcggagaggcagagatcctg aaatggggcggcaagcccagacggaagaatcctcaagaggcctgtataatgagctgca gaaagacaagatggccgaggcctacagcgagatcggaatgaaggcggagcgcagaaga ggcaagggacacgatggactgtaccagggcctgagcaccgccaccaaggatacctatg acgcaactgcacatgcaggccctgccacctaga	抗 ROR1 CAR (nt)
157	cagctccagctgcaagaatctggacctggcctggcgaagcccagcgagacactgtctc tgacctgtacagtgctccggcggcagcatcaatagcaccacaagctactggcctggat cagacagcctcctggcaaggcctggaatggatcggcaccatcttctacagcggcaag acctacaacaacccccagcctgaagtccagagtacccatgagcgtggacaccagcaaga accacttcagcctgaaagtgaacagcgtgacagccgccgataccgccgtgtactactg cgccagattcgactacggcttccacgacgccttcgacatctggggccagggcacaatg gtcacagtttctagcggaggcggaggatctggtggcggagggaagtggcggaggcgggtt ctgagatttgtgatgacacagagccccgccactctgagccttagtcttgcgaaagagc cacactgagctgacagagccagcagcatcaccagcattacctgagctgaggtatcag cagaagccggcagaggtcccagactgctgatctatggcgcctctacaagagccaccg gcattccccgccgcttcttctggctctggaagcggcaccgacttcacctgacctatc tagcctgcagcctgaggacttcgtggtgtactattgccagcaggactacaacctgtac accttcggccaggggaccaagctggaatcaagagagagtctaaatacggaccgcctt gtcctccttgtccatgttctgggtgctcgtggtcgttggcggagtgtggcctgtta	抗 ROR1 CAR (nt)

10

20

30

40

50

	cagcctgctggttacggtggccttcatcatcttttgggtcaagcggggcagaaagaag ctgctctacatcttcaagcagcccttcatgcgcccggtgcagaccacacaagaggaag atggctgctcctgcagattccccgaggaagaagaaggcggtgcgagctgagagtga gttcagcagatccgcccagcgtccagcctatcagcagggccaaaaccagctgtacaac gagctgaacctggggagaaagagaagtagtagcgtgctggataagcggagaggcagag atcctgaaatgggcggaagcccagacggaagaatcctcaagagggcctgtataatga gctgcagaaagacaagatggccgagggcctacagcgagatcggaatgaagggcgagcgc agaagagggaaggacacgatggactgtaccagggcctgagcaccgccaccaaggata cctatgacgcactgcacatgcaggccctgccacctaga	
158	caggttcagctgcaagagtctggccctggcctgggtcaagcctagcgaacactgagcc tgacctgtaccgtgtctggcggcagcatctccaactactactggctcctggatcagaca gctgcccggcaaaaggcctggaatggatcggcagaatctacaccagcggcagcaccac tacaaccccagcctgaagtccagagtgacctgagcgtggacaccagcaagaaccagt tctccctgaagctgagcagcctgacagccgcccagataccgccatctactactgtgcccg gtactacgatatcctgaccggcttcttcgactactggggccagggaaactggtcaca gtttctagcggaggcggaggtatctggtggcgaggaaagtgccggaggcggttctgtga tttggatgacacagagccctagcctgctgagcgccagcacaggcgatagcgtgacct cagctgcagaatgagccagacatcagcagctacctggcttggtatcagcagaagcct ggcaaggccctgaactgctgatctatgccgcttccagtctgcagagcggcgtgccat ctagattttccggcagcggctctggcaccgacttaccctgacaatcagctccctgca gtccgaggacttcgccacctactattgccagcagtagcagacgttccctccaaccttt ggccagggcaccaagggtggaattcaagcgcagcttaataacggaccgccttgcctc cttgtcccggccagccaagagagcccaggtttacacactgctccaagccaagagga aatgaccaagaatcaggtgtcctgacatgcctgggtcaagggcttctacccctccgat atcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctc ctgtgctggacagcagcggcaggttcttctctgtatagtagactcaccgtggataaatc aagatggcaagaggccaacgtgttcagctgcagcgtgatgcagagggcctgcacaac cactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaagatgttctgggtgctcgtgg tcgttggcgagtgctggcctgttacagcctgctggttaccgtggccttcatcatctt ttgggtcaagcggggcagaaagaagctgctctacatcttcaagcagcccttcatgcgg ccgctgcagaccacacaagaggaagatggctgctcctgcagattccccgaggaagaag aaggcggtgcgagctgagagtgaagttcagcagatccgcccagcgtccagcctatca gcagggccaaaaccagctgtacaacgagctgaacctggggagaagagaagtagtagac gtgctggataaagcggagaggcagagatcctgaaatggcgggcaagcccagacggaaga atcctcaagagggcctgtataatgagctgcagaaagacaagatggccgagggcctacag cgagatcggaatgaagggcgagcgcagaaagggcaaggggacagatggactgtaccag ggcctgagcaccgccaccaaggatacctatgacgcactgcacatgcaggccctgccac ctaga	抗 ROR1 CAR (nt)
159	caggtgcagctggttcaatctggcgccgaagtgaagaaccaggcgccctctgtgaagg tgtcctgcaaggccagcggctacacctttaccagctacggcatcagctgggtccgaca ggctcctggacaaggcttggatggatgggctggatcagcgcctacaacggcaacacc aaatacgcccagaaactgcagggcagagtgacctgaccaccgacaccagcacaagca ccgcctacatggaactgcggagcctgagatccgatgacaccgcccgtgtactactgcgc cagagatgaggacatcctgaccggctacaactactacggcatggacgtgtggggccag ggcacaacagtgacagtttcttctggcgccgaggatctggcgagggtggaagcggag gcggtggatctcaactgggtgctgacacagctcctagcgcctctgcttctctgggagc cagcgtgaagctgacctgtacactgtctagcggccacagcagctacgccattgcttgg catcagcagcagcccgagaaggccctagatacctgatgaagctgaacagcgcagcga gccactctaaaggcgacggcatccccgatagattcagcggcagttctagcggagccga gcgctacctgacaatcagctctctgcaatccgaggacgagggccgactactactgtcag acatggggcaccggcatcagagtggttggcgaggccaccaagctgacagtgtctggag agtctaaatacggaccgccttgtcctccttgcctcccgccagccaagagagccccaggt ttacacactgctccaagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtcctgacatgc ctgggtcaagggttctacccctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagc ctgagaacaactacaagaccacacctcctgtgctggacagcagcggcagtttcttct gtatagtagactcaccgtggataaatcaagatggcaagagggcaacgtgttcagctgc agcgtgatgcacagggcctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctc tgggcaagatgttctgggtgctcgtgggtcgttggcgagtgctggcctgttacagcct gctgggtaccgtggccttcatcatcttttgggtcaagcggggcagaaagaagctgctc tacatcttcaagcagcccttcatgcgcccggtgcagaccacacaagaggaagatggct gctcctgcagattccccgaggaagaagaaggcggtgcgagctgagagtgaagttcag	抗 ROR1 CAR (nt)

10

20

30

40

50

	cagatccgccgacgctccagcctatcagcagggccaaaaccagctgtacaacgagctg aacctggggagagaagagaagagtacgacgtgctggataaagcggagaggcagagatcctg aaatggggcggcaagcccagacgggaagaatcctcaagagggcctgtataatgagctgca gaaagacaagatggccgagggcctacagcgagatcggaatgaagggcgagcgcagaaga ggcaagggacaacgattggactgtaccagggcctgagcacccgcccaaggatacctatg acgcactgcacatgcaggccctgccacctaga	
160	cagctccagctgcaagaatctggacctggcctgggtcaagcccagcgagacactgtctc tgacctgtacagtgtccggcggcagcatcaatagcaccacaagctactgggcctggat cagacagcctcctggcaagggcctggaatggatcggcaccatcttctacagcggcaag acctacaacaaccagcctgaagtccagagtaccatgagcgtggacaccagcaaga accacttcagcctgaaagtgaacagcgtgacagccgcccagataccgccgtgtactactg cgccagattcgactacggcttcacagacgccttcgacatctggggccagggcacaatg gtcacagtttctagcggagggcggaggtctgggtggcggaggaagtggcggaggcggtt ctgagattgtgatgacacagagccccgccactctgagccttagtctctggcgaaagagc cacactgagctgcagagccagccagagcatcaccagcgattacctgagctggtatcag cagaagcccggacagggctcccagactgctgatctatggcgctctacaagagccaccg gcattccccggcgccttttctggctctggaagcggcaccgacttcacctgacctatc tcgctgcagcctgaggacttcgtgggtgactattgccagcaggactacaacctgtac accttcggccaggggaccaagctggaatcaagagagagtctaaatcaggaccgcctt gtcctccttgtccggccagccaagagagccccaggtttacacactgcctccaagcca agaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctgggtcaaggccttctacccc tccgatctcgccgtggaatgggagagcaatggcagcctgagaaactacaagacca cacctcctgtgagcagcagcggcagtttcttctgtatagtagactcacctggga taaatcaagatggcaagagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctg cacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaagatgttctgggtgc tcgtggctggtggcggagtgtgtggcctgttacagcctgctgggtaccgtggccttcat catcttttgggtcaagcggggcagaaagaagctgctctacatcttcaagcagcccttc atgcggcccggtgcagaccacacaagagggaagatggctgctcctgcagattccccgagg aagaagaaggcggctgcgagctgagagtgaagttcagcagatccgccgacgctccagc ctatcagcagggccaaaaccagctgtacaacgagctgaacctggggagagaagagaag tacgacgtgctggataaagcggagagggcagagatcctgaaatggcgccgaagccagac ggaagaatcctcaagagggcctgtataatgagctgcagaaagacaagatggccgaggc ctacagcgagatcggaatgaagggcgagcgcagaagaggcaagggacacgatggactg taccagggcctgagcaccgccaccaaggatacctatgacgcactgcacatgcaggccc tgccacctaga	抗 ROR1 CAR (nt)
161	cagggtcagctgcttcagtctggcgccgaagtgaagaaacctggcgctctgtgaagg tgtcctgcaaggccagcggctacacctttaccagctacggcatcagctgggtccgaca ggctcctggacaaggccttggaaatggatgggctggatcagcgctacaccggcaatacc agatcggcccagaaaactgcagggcagagtgaccatgaccaccgacaccagcacaaagca ccgctacatggaactgcggagcctgagatccgatgacacccgcgtgtactactgcgc cagagaagaaggcggccaccaccgactacgactactacggcatggatgtgtggggccag ggaacagccgtgacagtttcttctgggtggcggaggatctggcgagggtggaagcggcg gaggcggatctcaactggttctgacacagagcccaagcgctctgcacatctctgggagc ttccgtgaagctgacctgcacactgtctagcggccacagcagctatgccattgcctgg catcagcaacagcccgagaaaggccctagatacctgatgaagctgaacagcgacggca gcoactctaaaggcgacggcatccccgatagattcagcggcagttctagcggagccga gcgctacctgacaatcagctctctgcaatccgaggacgaggccgattactactgtcag acatggggcaccggcatcagagtggttggcgccggaacaaagctgacctgtgtggcg agctctaaatcaggaccgccttgcctccttgcctggccagccaagagagccccaggt ttacacactgcctccaagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtcctgacatgc ctgggtcaagggtcttaccctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagc ctgagaacaactacaagaccacacctcctgtgctggacagcgacggcagtttcttct gtatagtagactcacctggataaatcaagatggcaagagggcaacgtgttcagctgc agcgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctc tgggcaagatgttctgggtgctcgtgggtggcggagtgctggcctgttacagcct gtcgggttacgtggccttcatcatcttgggtcaagcggggcagaaaagagctgctc tacatctcaagcagcccttcatgcggccgtgcagaccacacaagagggaagatggct gctcctgcagattccccgaggaagaagaaggcggtgcgagctgagagtgaagttcag cagatccggcgacgctccagcctatcagcagggccaaaaccagctgtacaacgagctg aacctggggagagaagagaaggtacgacgtgctggataagcggagaggcagagatcctg aaatggcgccgaagcccagacgggaagaatcctcaagagggcctgtataatgagctgca	抗 ROR1 CAR (nt)

10

20

30

40

40

	attcctactgccgcaacccaggaatcaaaaggaagctccctggtgcttcaccttggat tgaaaactttaagctgatctgtgtgacatccagcttgcgattcaaaggattccaag gagaagaataaaaatggaaatcctgtacatactagtccaagtggtccattcccctgg ccattgctttactcttcttctcatttgcgtctgtcggaataaccagaagtcacgtc ggcaccagtccagaggcaacccaaacacgtcagaggtcaaaatgtggagatgtcaatg ctgaatgcatataaacccaaggaagcgtaaagagctacctcttctgctgtacgct ttatggaagaattgggtgagtggtcctttggaaaaatctataaaggccatctctatct cccaggcatggaccatgctcagctggttgctatcaagaccttgaaagactataacaac cccagcaatggatggaatttcaacaagaagcctccctaatggcagaactgcaccacc ccaatattgtctgcttctaggtgccgtcactcaggaacaacctgtgtgcatgctttt tgagtataattaatcagggggatctccatgagttcctcatcatgagatcccacactct gatgttggctgcagcagtgatgaagatgggactgtgaaatccagcctggaccacggag attttctgcacattgcaattcagattgcagctggcatggaatacctgtctagtcaactt ctttgctccacaaggaccttgacgtcgcaatattttaatcggagagcaacttcatgta aagatttcagacttggggctttccagagaaatttactccgctgattactacagggctcc agagtaagtccctgtgcccattcgctggatgccccctgaagccatcatgtatggcaa attctcttctgattcagatattcgtcctttgggggtgtcttctgtgggagattttcagt tttggaactccagccatattatggattcagtaaccaggaagtgttgagatggtgagaa aacggcagctcttaccatgctctgaagactgcccaccagaatgtacagcctcatgac agagtgtggaatgagattccttctaggagaccaagatttaagatattcacgtccgg cttcgggtcctgggagggactctcaagtccacacaagctctactactccttcagggggaa atgccaccacacagacaacctccctcagtgccagcccagtgagtaattctcagtaacc cagatattcctaattacatgttcccagccagggtattacaccacagggccagattgct ggtttcattggcccgcgaataacctcagaaccagcgattcattcccatcaatggatacc caatacctcctggatattgcagcgtttccagctgccactaccagccaacaggtcctcc cagagtgttcagcactgccacacctccaagagtcggtccccaagcagtgccagtgagg tcgactagcactggcactgtgactagcttgcctcatcaggatccaatcaggaagcaa atattcctttactaccacacatgtcaattccaaatcatcctggtggaatgggtatcac cgtttttggcaacaataatctcaaaaacctacaaaattgactcaaagcaagcatcttta ctaggagacgccaatattcattggacacaccgaatctatgatttctgcagaactgtaaa atgcacaacttttgttaaatgtggtatcacaggacaaaactagacggcgtagaaaagatt tatattcaaatgtttttattaaagtaagggttctcatttagcagacatcgcaacaagta ccttctgtgaagtttcaactgtgtcttaccgaagcaggacagacactcggccag	
171	QETELSVSAELVPTSSWNTSSEIDKGSYLTLDPMNNITSLGQTAELHCKVSGNPPP SIRWFKNDAPVVEPRRISFRATNYGSLRLIRNLDTDTGYFQCVATNGKKVSTTG LVFKFGPPPTASPGSSDEYEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESLHMQGEIENQIT AAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSVVKPRDLRDECEVLENVLCQ TEYIFARSNPMILMRLKLPNCEDLPQPESPEAANCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGV DYRGTVSVTKSGRQCQWPNSQYPHTHSFTALRFPPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWCFTL DENFKSDLCDIPACDSKDSKEKNMEILYILVPSVAIPLAIAFLFFFCVCRNNQKSS SPPVQRQPKPVRGQNVEMSLNAYKPKSKAKELPLSAVRFMEEELGECTFGKIYKGHLY LPGMDHAQLVAIKTLKDYNPNPQQWTEFQQEASLMAELHHPNIVCLLGAVTQEQPVCML FEYMNQGDLEHFLIMRSPHSDVGCSSDEDGTVKSSLDHGDFLHIAIQIAAGMEYLSSH FFVHKDLAARNILIGEQLHVKISDLGLSREIYSADYYRVQSKSSLP IRWMPPEAIMYG KFSDDSDIWSFGVVLWEIFSFGLQPYYGFSNQEVIEVMVRKRQLLPCSEDCPPRMYS TECWNEIPSRPRFKDIHVRRLRSWEGLSSTSTTPSGGNATTQTSLASPVSNLSN PRFPNYMFP SQGITPQGQIAGFIGPAIPQNRFP IPINGYP IPPGYAAFPAAHYQPAGP PRVIQHCPPPKSRSPSSASGSTSTGHVASLPSGSGSNQEANVPLLPHMSIPNHPGGMGI TVFGNKSQKPYKIDSKQSSLLGDSHIGHTESMISAEV	マウス ROR1; GenBank No. NP_038873
172	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFSDYEMHWVIQTPVHGLEWIGAIIDPETGGT AYNQKFKGKAILTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTGYDYDSFTYWGQGLTVTV SA	2A2 V _H
173	DIVMTQSQKIMSTTVGDRVSITCKASQNVDAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGV PDRFTGSGSGTDFTLTISNMQSEDLADYFCQQYDIYPYTFGGGKLEIK	2A2 V _L
174	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYAFTAYNIHWVRQAPGQGLEWMGSFDPYDGGG SYNQKFKDRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCARGWYFDYWGHTLVTVSS	99961 ヒト化 V _H
175	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYAFTAYNIHWVRQAPGQGLEWMGSFDPYDGGG SYNQKFKDRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCARGWYFDYWGHTLVTVSS	99961 ヒト化 V _H

10

20

30

40

176	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYAFTAYNIHWIRQPPGKGLEWIGSFDPYDGGSSYNQKFKDRLTISKDTSKNQVVLMTNMMDPVDATATYYCARGWYFYFDYWGHTLVTVSS	99961 ヒト化 V _H
177	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYAFTAYNIHWIRQPPGKGLEWIGSFDPYDGGSSYNQKFKDRLTISKDTSKNQVVLMTNMMDPVDATATYYCARGWYFYFDYWGHTLVTVSS	99961 ヒト化 V _H
178	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRASKSISKYLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPPRFSGSGYGTDFLTITINNIESEDAAYYFCQQHDESPYTFEGGTKVEIK	99961 ヒト化 V _L
179	DVVTMTQSPSLPVTLGQPASISCRASKSISKYLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGIPPRFSGSGYGTDFLTITINNIESEDAAYYFCQQHDESPYTFEGGTKVEIK	99961 ヒト化 V _L
180	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRASKSISKYLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPPRFSGSGYGTDFLTITINNIESEDAAYYFCQQHDESPYTFEGGTKVEIK	99961 ヒト化 V _L
181	DVVTMTQSPSLPVTLGQPASISCRASKSISKYLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGIPPRFSGSGYGTDFLTITINNIESEDAAYYFCQQHDESPYTFEGGTKVEIK	99961 ヒト化 V _L
182	agagtcaagttttccaggtccgccgacgtccagcctaccagcagggggcagaaccagctgtacaacagagctgaacctgggcagaaaggaagtagcagctcctggataaagcgagaggccgggacctgagatggcggaagcctcgccggaagaacccccaggaaggcctgtataacgaactgcagaaagacaagatggccgagcctacagcgagatcgccatgaaggcgagcgaggcggggcaagggccacgacggcctgtatcagggcctgtccaccgccaccaaggatacctacgacgccctgcacatgcaggccctgcccccaagg	CD3ζ 由来 細胞内 シグナル伝達 ドメイン (nt)
183	aggagtaagaggagcaggctcctgcacagtgaactacatgaacatgactccccgccgccccggggcccaccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctatcgctcc	CD28 エンドドメイン (nt)
184	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISNYYSWIRQPPGKGLEWIGRIYTSGSTNYPNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSLTAADTAIYYCARYYDILTGFFDYWGQGTILVTSSGGGGGGGGGGGGGGSVIWMQTSPSLLSASTGDSVTISCRMSQDISSYLAWYQQKPGKAPELLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITISLQSEDFATYYCQQYDSFPPTFGQGTKVEFKRESKYGPPCPPCPMFVWLTVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	抗 ROR1 CAR (aa)
185	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSINSTSYWAWIRQPPGKGLEWIGTIFYSGKTYNNPSLKSRVTMSVDTSKNHFSLKVNSTADTAVYYCARFDYGFHDAFDIWGQGTMTVTSSGGGGGGGGGGGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIISDYLSWYQKQPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTDFLTITISLQPEDFVYYCQQDYNLITFGQGTKLEIKRESKYGPPCPPCPMFVWLTVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	抗 ROR1 CAR (aa)
186	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISNYYSWIRQPPGKGLEWIGRIYTSGSTNYPNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSLTAADTAIYYCARYYDILTGFFDYWGQGTILVTSSGGGGGGGGGGGGGGSVIWMQTSPSLLSASTGDSVTISCRMSQDISSYLAWYQQKPGKAPELLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITISLQSEDFATYYCQQYDSFPPTFGQGTKVEFKRESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKMFVWLTVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	抗 ROR1 CAR (aa)
187	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWSAYNGNTKYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDEDILTGYNYGMDVWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGGGGGQLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSGHSYAIAGWQQQPEKGPRLYMLKNSDGSKSGDIPDRFSGSSSGAERYLTITISLQSEDEADYYCQTWGTGIRVFGGGTKLTVLGESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCT	抗 ROR1 CAR (aa)

10

20

30

40

	LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLGLKMFVWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	
188	QLQLQESGPGLVKVPSETLSLTCTVSGGSINSTTSYWAWIRQPPGKLEWIGTIFYSGK TYNNPSLKSRVTMSVDTSKNHFSLKVNSVTAADTAVYYCARFDYGFHDAFDIWGQGT MTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQISITSDYLSWYQ QKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFVYYCQQDYNLY TFGQGTKEIKRESKYGPPCPPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLKMFVWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPF MRPVQTTEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	抗 ROR1 CAR (aa)
189	QVQLLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYTGNT RYAQKQLQGRVITMTDSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREEGATTDYDYGMDVWQG GTAVTVSSGGGSGGGSGGGSQLVLTQSPASASLGLASVKLTCTLSSGHSSYAI AWHQQQPEKGPRLYMLKNSDGSLSKGDGIPDRFSGSSSGAERYLTISLQSEDEADY YCTWTGTGIRVFGGGTKLTVLGESKYGPPCPPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLGLKMFVWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	抗 ROR1 CAR (aa)
190	atgcctctgctgctgcttctgcctcttcttgggctggtgctctgct	CD33 シグナル 配列 (nt) (O/SSE)
191	atgccgctgctgctactgctgcccctgctgtgggcaggggcccctggct	CD33 シグナル 配列 (nt) GenBank: M23197.1
192	gaatctaagtagcgaccgcctgcccccttgcctatg	スパーサー (IgG4 ヒンジ) (nt)
193	GAATCTAAGTACGGACCGCCTTGCTCCTCATGTCCTGGCCAGCCAAGAGAACCCAGG TGACACACTGCCTCCAAGCCAAGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCTTGACCTG CCTGGTCAAGGGCTTCTACCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGAGAGCAATGGCCAG CCTGAGAACAACTACAAGACCACACCTCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTCC TGACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAAGAGGGCAACGTGTTACAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCTACACCCAGAAGTCTCTGAGCCTGAGC CTGGGCAAG	ヒンジ -C _H 3 スパーサー (nt)
194	ESKYGPPCPPPAPPVAGPSVFLFPKPKDLMISRIPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKGM	IgG4/IgG2 ヒンジ - IgG2/IgG4 C _H 2- IgG4 C _H 3 スパーサー (aa)
195	gaatctaagtagcgaccgcctgcccctccctgcccctgctcctcctgtggctggaccaa gcgtgttccctgtttccacctaaagcctaaagataccctgatgatattcccgcacacctga agtgaacttgcgtggtcgtggacgtgagccaggaggatccagaagtgcagttcaactgg tacgtggacggcgtggaagtccacaatgctaagactaaaccccgagagggaacagtttc agtcaacttaccgggtcgtgagcgtgctgaccgtcctgcatcaggattggctgaacgg gaaggagtataagtgc aaagtgtctaataagggaactgcctagctccatcgagaaaaaca attagtaaggcaaaaggcagcctcgagaaccacaggtgtataccctgccccctagcc aggaggaaatgaccaagaaccaggtgtccctgacatgtctggtcaaaggcttctatcc aagtgacatcgccgtggagtgggaatcaaaggggcagcccgagaacaattacaagacc acaccaccctgctggactctgatggaagtttcttctgtattccaggctgaccgtgg ataaatctcgctggcaggagggaacgtgttctcttgcagtgcatgcacgaagccct gcacaatcattatacacagaagtcactgagcctgtccctgggcaaatg	IgG4/IgG2 ヒンジ - IgG2/IgG4 C _H 2- IgG4 C _H 3 スパーサー (nt)

10

20

30

40

196	gagtcataaatacggaccgccttgctcctccttgctcccgctcctcctggtgccggacctt ccgtggtcctggttctcctccaagcctaaggacacctgatgatcagcaggacctcctga agtgcacctgctggtggtggtgatgtgtcccaagaggatcccgaggtgcagttcaactgg tatgtggacggcgtggaagtgcacaacgcccaagaccaagcctagagagggaacagttcc agagcacctacagagtgggtgctcgtgctgacagtgtgcaccaggattggctgaacgg caaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggcctgcttagcagcatcgagaaaacc atctccaaggccaaggccagccaagagagccccaggtttacacactgcctccaagcc aagaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctggtcaagggttctaccc ctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagacc acacctcctgtgctggacagcgacggcagtttcttctgtatagtagactcacctgg ataaatcaagatggcaagagggaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccct gcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaagatg	IgG4/IgG2 ヒンジ - IgG2/IgG4 C _H 2- IgG4 C _H 3 スペーサー (nt) O/SSE
197	ttttgggtgctggtcgtggtcggaggggtgctggcctgttacagcctgctggtgacag tcgctttcatcatcttctgggtg	CD28 膜貫通 ドメイン (nt)
198	ttctgggtgctcgtggtcgttggcggagtgctggcctgttacagcctgctggttacccg tggccttcatcatcttttgggtc	CD28 膜貫通 ドメイン (nt) (O/SSE)
199	FRSTIYGSRLRIRNL	ROR1 エピトープ 1
200	LSVSAELVPTSSW	ROR1 エピトープ 2
201	HCKVSGNPPPTIRW	ROR1 エピトープ 3
202	WFKNDAPVVQEPRLSFRSTIYGSRL	ROR1 エピトープ 4
203	VSSTGVLFV	ROR1 エピトープ 5
204	LFVKFGPPPTASP	ROR1 エピトープ 6
205	DEYEEDGFCQP	ROR1 エピトープ 7
206	QPYRGIACARFIGN	ROR1 エピトープ 8
207	SQFAIPSLCHYAFP	ROR1 エピトープ 9
208	AFPYCDETSSVP	ROR1 エピトープ 10
209	NVLCQTEYIFARSNPMILMR	ROR1 エピトープ 11
210	LKLPNCEDLPQP	ROR1 エピトープ 12
211	PESPEAANCIRIGIP	ROR1 エピトープ 13
212	VDYRGTVSVTKSGR	ROR1 エピトープ 14
213	SQYPHTHTFIALRF	ROR1 エピトープ 15
214	DSKEKNKMEILYILV	ROR1 エピトープ 16
215	MHRPRRRGTRPPLALLAALLAARGAAQETELSVSAELVPTSSWNISSELNKDSYLTLDPEM NNITITSLGQTAELHCKVSGNPPPTIRWFKNDAPVVQEPRLSFRSTIYGSRLRIRNLDTDTGY FQCVATNGKEVVSTGVLFVKFGPPPTASPGYSDEYEEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESL HMQGEIENQITAAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDTSSVPKPRDLCRDECEILE NVLCQTEYIFARSNPMILMRLKLPNCEDLPQPESPEAANCIRIGIPMAFINKNHKCYNSTGVD	ヒト (Homo sapiens) ROR1

10

20

30

40

50

	YRGTVSVTKSGRQCQPWNSQYPHTHTFTALRFPPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWCFTLDENFKSD LCDIPACDSKDSKEKNKMEILYLVPVSAIPLAIALLEFFFCVCRNNQKSSSPVQRPKHVRG QNVEMSMNLNAYKPKSKAKELPLSAVRFMEELGECAGFKIYKGHLVLPMDHAQLVAIKTLKDYN NQQTWTEFQOEASLMAELHHPNIVCLLGAVTQEQPVCMLFEYINQGDLEHFLIMRSPHSDVGC SDEDGTVKSSLDHGDFLHIAIQIAAGMEYLSHFFVHKDLAARNILIGEQLHVKISDLGLSREI YSADYYRVQSKSLPLIRWMPPEAIMYGKFSDDIWSFGVVLWEIFSGLQPYYGFSNQEVIE MVRKRQLLPCESEDCCPRMYSMLTECWNEIPSRPRPKD IHVRLRSWEGLSSTSTTPSGGNATT QTTSLSASPVSNLSPRYPNYMFPSQGITPQGQIAGFIGPPIPNQRFIPINGYPIPPGYAAFP AAHYQPTGPPRVIQHCPPPKSRSPSSASGSTSTGHVTSPLSSSGSNQEANIPLLPHMSIPNHPGG MGITVFGNKSQKPYKIDSKQASLLGDANIHGHTESMISAE	(Uniprot Q01973)
216	MHRPRRRGRTRPPLALLAALLAARGAAQETELSVSAELVPTSSWNISSELNKDSYLTLDPEM NNITTSGLQTAEHLCKVSGNPPPTIRWFKNDAPVVQEPRLSFRSTIYGSRLRIRNLDITDTGY FQCVAINGKEVVSSTGVLFVKFGPPPTASPGYSDEYEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESL HMQGEIENQITAAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSVVKPRDLRDECEILE NVLCQTEYIFARSNPMLMRLKLPNCEDLPQESPEAANCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGVD YRGTVSVTKSGRQCQPWNSQYPHTHTFTALRFPPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWCFTLDENFKSD LCDIPACDSKDSKEKNKMEILYLVPVSAIPLAIALLEFFFCVCRNNQKSSSPVQRPKHVRG QNVEMSMNLNAYKPKSKAKELPLSAVRFMEELGECAGFKIYKGHLVLPMDHAQLVAIKTLKDYN NQQTWTEFQOEASLMAELHHPNIVCLLGAVTQEQPVCMLFEYMNQGDLEHFLIMRSPHSDVGC SDEDGTVKSSLDHGDFLHIAIQIAAGMEYLSHFFVHKDLAARNILIGEQLHVKISDLGLSREI YSADYYRVQSKSLPLIRWMPPEAIMYGKFSDDIWSFGVVLWEIFSGLQPYYGFSNQEVIE MVRKRQLLPCESEDCCPRMYSMLTECWNEIPSRPRPKD IHVRLRSWEGLSSTSTTPSGGNATT QTTSLSASPVSNLSPRYPNYIFPSQGITPQGQIAGFIGPPIPNQRFIPINGYPIPPGYAAFP AAHYQPTGPPRVIQHCPPPKSRSPSSASGSTSTGHVTSPLSSSGSNQEANIPLLPHMSIPNHPGG MGITVFGNKSQKPYKIDAKQASLLGDANIHGHTESMISAE	アカゲ ザル (Macaca mulatta) ROR1 (Uniprot F6RUP2)
217	MLRTAHKLLYLILPLSFLPFFFFSETELSVSAELVPTSSWNISSELNKDSYLTLDPEMNNIT TSLGQTAEHLCKVSGNPPPTIRWFKNDAPVVQEPRLSFRSTIYGSRLRIRNLDITDTGYFQCVA TNGKEVVSSTGVLFVKFGKDEYEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESLHMQGEIENQITAAFT MIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSVVKPRDLRDECEILENVLCQTEYIFARSN PMLMRLKLPNCEDLPQESPEAANCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGVDYRGTVSVTKSGRQC QPWNSQYPHTHTFTALRFPPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWCFTLDENFKSDLCDIPACDSKDSKE KNKMEILYLVPVSAIPLAIALLEFFFCVCRNNQKSSSPVQRPKHVRGQNVEMSMNLNAYKPK SKAKELPLSAVRFMEELGECAGFKIYKGHLVLPMDHAQLVAIKTLKDYNPNQQTWTEFQOEASL MAELHHPNIVCLLGAVTQEQPVCMLFEYMNQGDLEHFLIMRSPHSDVGCSSDEDGTVKSSLDH GDFLHIAIQIAAGMEYLSHFFVHKDLAARNILIGEQLHVKISDLGLSREIYSADYYRVQSKSL PLIRWMPPEAIMYGKFSDDIWSFGVVLWEIFSGLQPYYGFSNQEVIEVMVRKRQLLPCESED CPRMYSMLTECWNEIPSRPRPKD IHVRLRSWEGLSSTSTTPSGGNATTQTTSLSASPVSNL SPRYPNYIFPSQGITPQGQIAGFIGPPIPNQRFIPINGYPIPPGYAAFPAAHYQPTGPPRVIQ HCPPPKSRSPSSASGSTSTGHVTSPLSSSGSNQEANIPLLPHMSIPNHPGGMGITVFGNKSQKPY KIDAKQASLLGDANIHGHTESMISAE	カニクイ ザル (Macaca fasicularis) ROR1 (Uniprot A0A2K5WT X7)
218	SYLTLDPEMNNITTSGLQTAEHLCKVSGNPPPTIRWFKNDAPVVQEPRLSFRSTIYGSRLRIR NLDITDTGYFQCVAINGKEVVSSTGVLFVKFGPPPTASPGYSDEYEDGFCQPYRGIACARFIG NRTVYMESLHMQGEIENQITAAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSVVKPRDL RDECEILENVLCQTEYIFARSNPMLMRLKLPNCEDLPQESPEAANCIRIGIPMADPINKNH KCYNSTGVDYRGTVSVTKSGRQCQPWNSQYPHTHTFTALRFPPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWC FTLDENFKSDLCDIPACDSKDSKEKNKMEILYLVPVSAIPLAIALLEFFFCVCRNNQKSSSPV QRQPKHVRGQNVEMSMNLNAYKPKSKAKELPLSAVRFMEELGECAGFKIYKGHLVLPMDHAQLV AIKTLKDYNPNQQTWTEFQOEASLMAELHHPNIVCLLGAVTQEQPVCMLFEYMNQGDLEHFLIMR SPHSDVGCSSDEDGTVKSSLDHGDFLHIAIQIAAGMEYLSHFFVHKDLAARNILIGEQLHVKIS DLGLSREIYSADYYRVQSKSLPLIRWMPPEAIMYGKFSDDIWSFGVVLWEIFSGLQPYYG FSNQEVIEVMVRKRQLLPCESEDCCPRMYSMLTECWNEIPSRPRPKD IHVRLRSWEGLSSTST TPSGGNATTQTTSLSASPVSNLSPRYPNYIFPSQGITPQGQIAGFIGPPIPNQRFIPINGY PIPPGYAAFPAAHYQPTGPPRVIQHCPPPKSRSPSSASGSTSTGHVTSPLSSSGSNQEANIPLLPH MSIPNHPGGMGITVFGNKSQKPYKIDAKQASLLGDANIHGHTESMISAE	カニクイ ザル (Macaca fasicularis) ROR1 (Uniprot A0A2K5WT X4)
219	MHRPRRRGRTRPPLALLAALLAARGADAQETELSVSAELVPTSSWNISSELNKDSYLTLDPEM NNITTSGLQTAEHLCKVSGNPPPTIRWFKNDAPVVQEPRLSFRATNYGSRLRIRNLDITDTGY FQCVAINGKVVSTTGVLFVKFGPPPTASPGSSDEYEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESL HMQGEIENQITAAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSVVKPRDLRDECEVLE NVLCQTEYIFARSNPMLMRLKLPNCEDLPQESPEAANCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGVD YRGTVSVTKSGRQCQPWNSQYPHTHTFTALRFPPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWCFTLDENFKSD LCDIPACDSKDSKEKNKMEILYLVPVSAIPLAIALLEFFFCVCRNNQKSSSPVQRPKPVRG QNVEMSMNLNAYKPKSKAKELPLSAVRFMEELGECAGFKIYKGHLVLPMDHAQLVAIKTLKDYN NQQTWTEFQOEASLMAELHHPNIVCLLGAVTQEQPVCMLFEYMNQGDLEHFLIMRSPHSDVGC SDEDGTVKSSLDHGDFLHIAIQIAAGMEYLSHFFVHKDLAARNILIGEQLHVKISDLGLSREI YSADYYRVQSKSLPLIRWMPPEAIMYGKFSDDIWSFGVVLWEIFSGLQPYYGFSNQEVIE MVRKRQLLPCESEDCCPRMYSMLTECWNEIPSRPRPKD IHVRLRSWEGLSSTSTTPSGGNATT QTTSLSASPVSNLSPRYPNYMFPSQGITPQGQIAGFIGPAIPQNRFPINGYPIPPGYAAFP AAHYQPTGPPRVIQHCPPPKSRSPSSASGSTSTGHVASLPSSSSGSNQEANVPLPHMSIPNHPGG MGITVFGNKSQKPYKIDSKQSSLLGDSHIHGHTESMISAEV	マウス (Mus musculus) ROR1 (Uniprot Q9Z139)

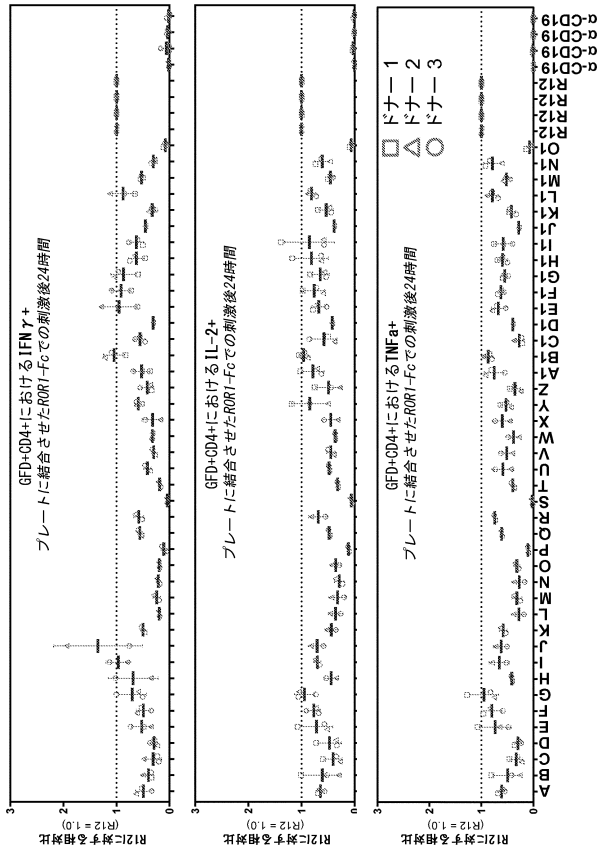
10

20

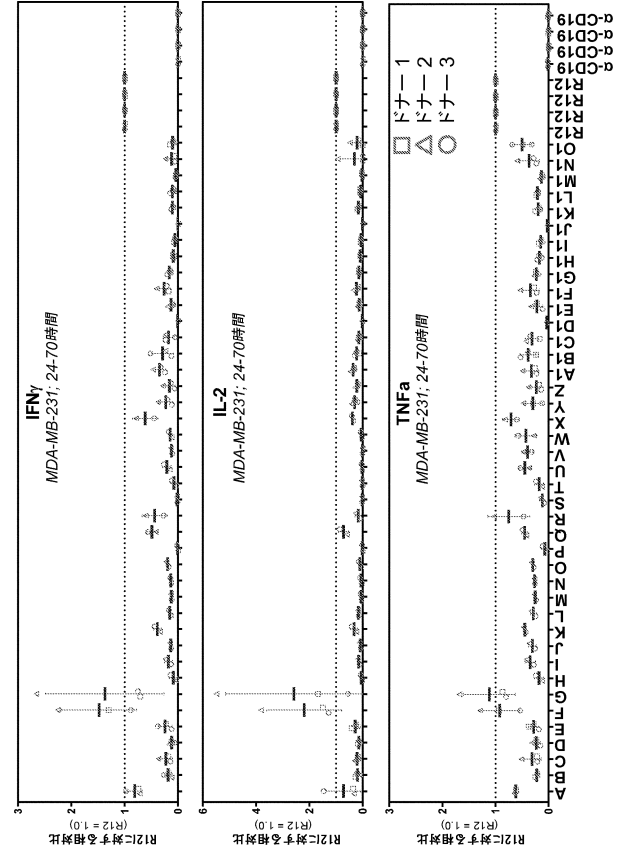
30

40

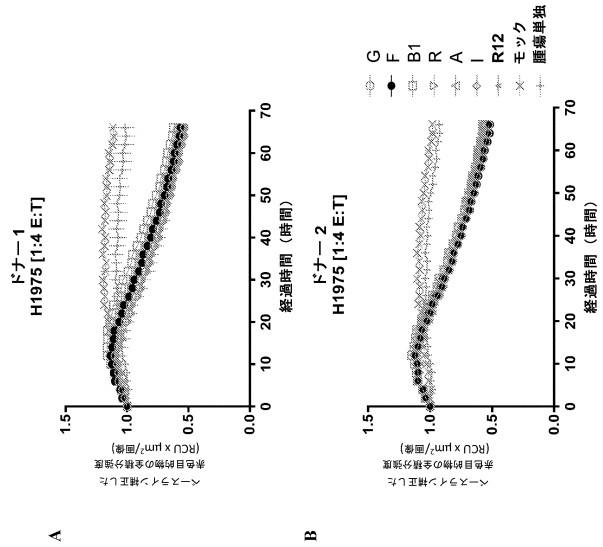
【図面】
【図 1】



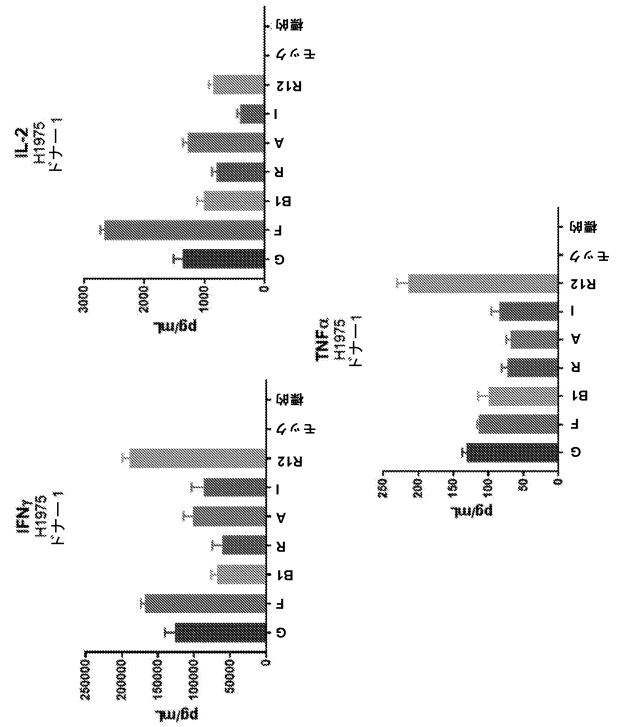
【図 2】



【図 3】



【図 4 A】



10

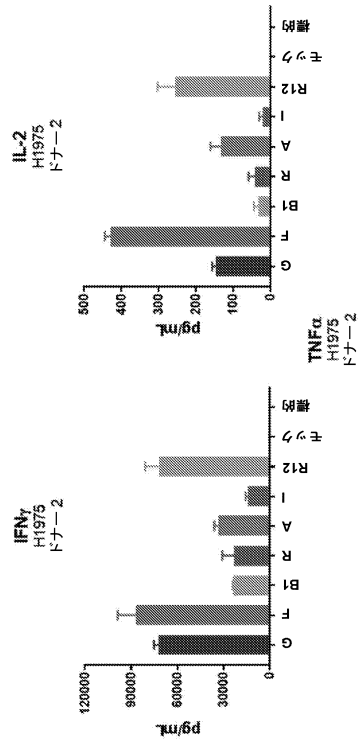
20

30

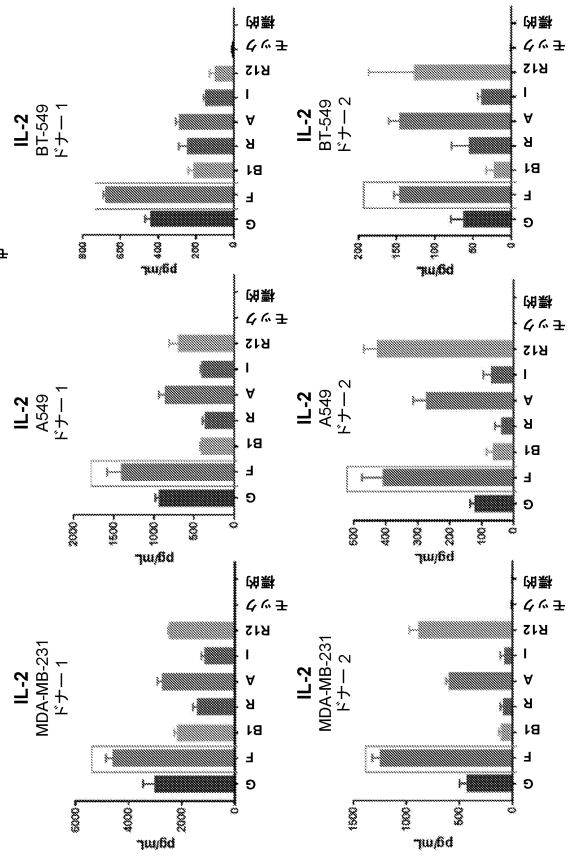
40

50

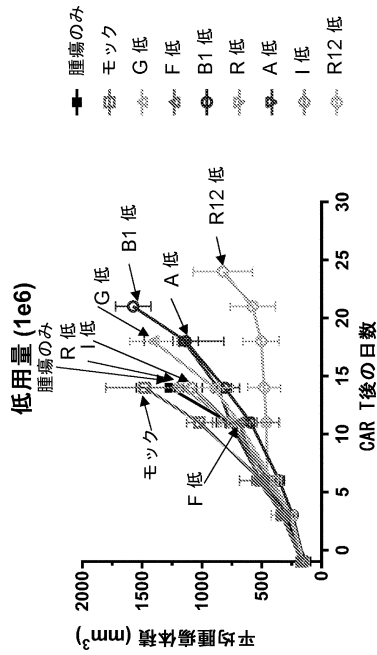
【図 4 B】



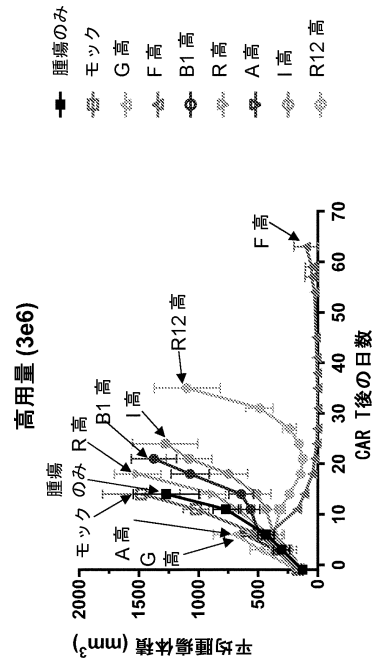
【図 4 C】



【図 5 A】



【図 5 B】



10

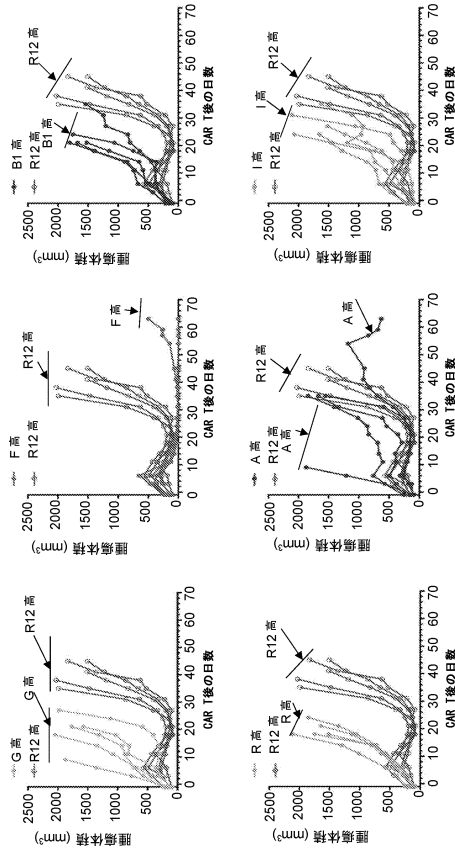
20

30

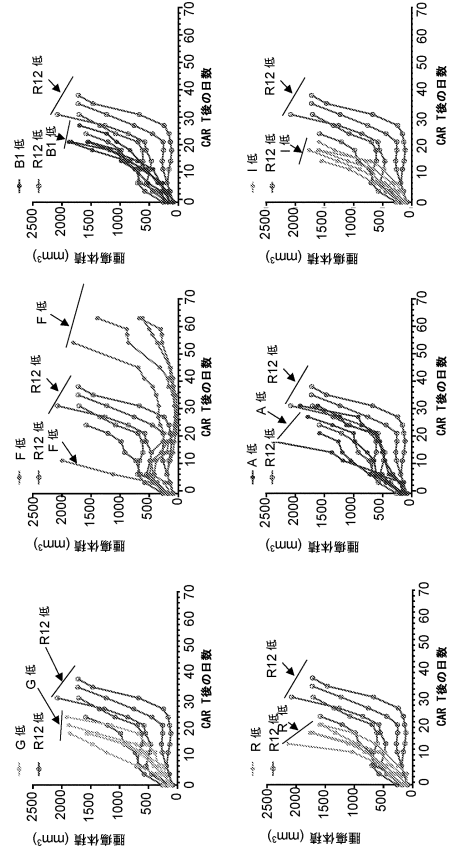
40

50

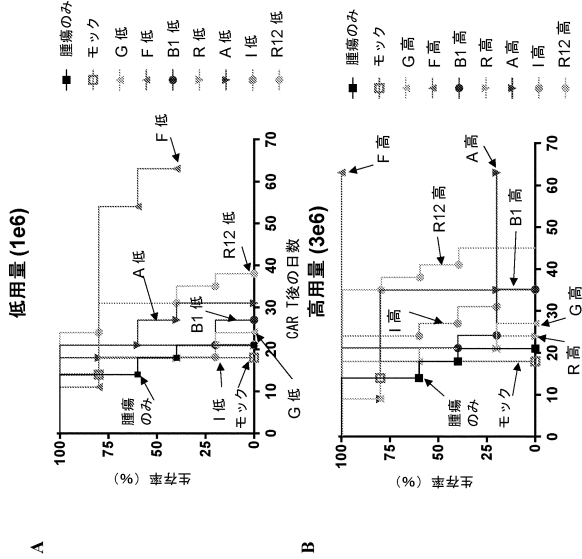
【図 5 C】



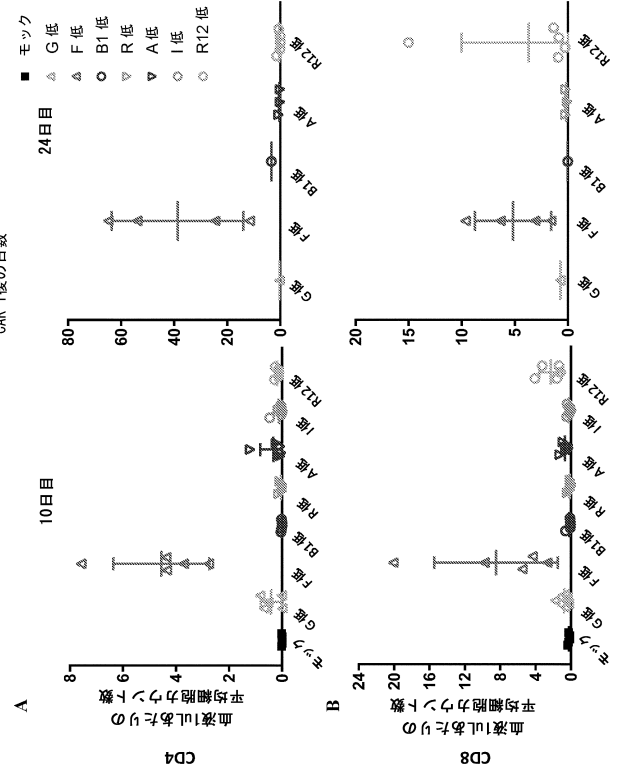
【図 5 D】



【図 6】



【図 7-1】



10

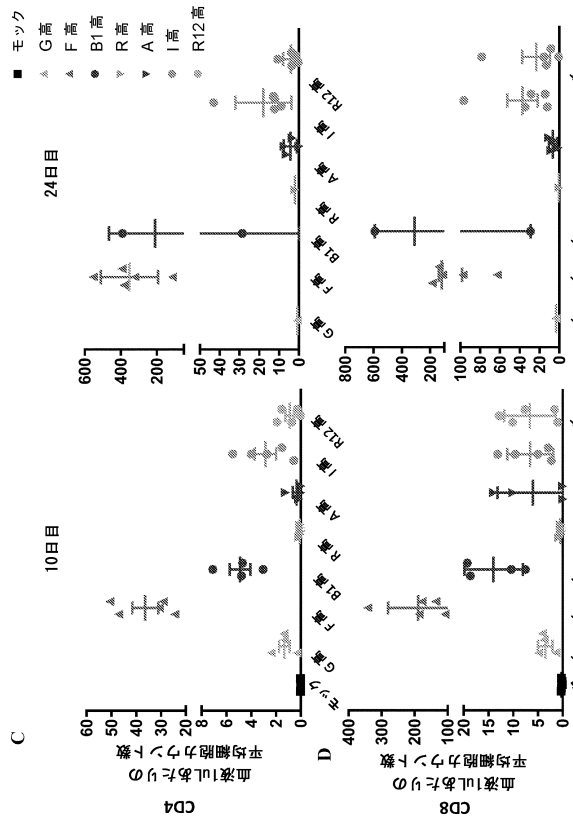
20

30

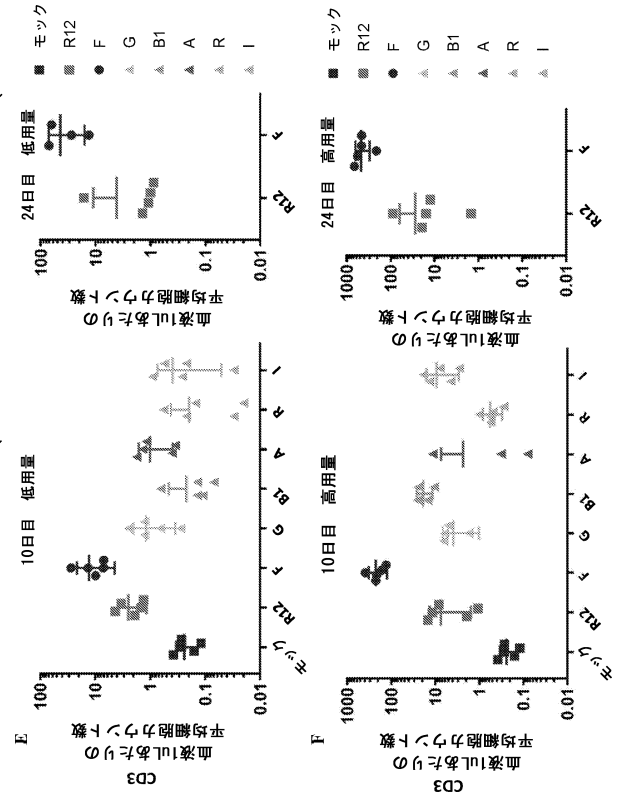
40

50

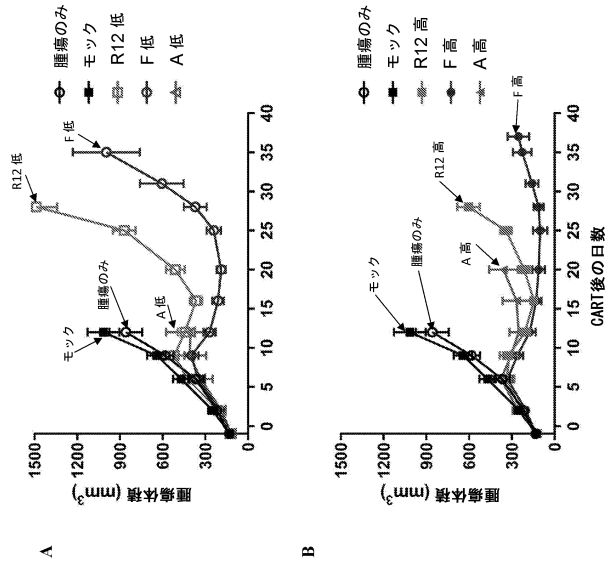
【図 7 - 2】



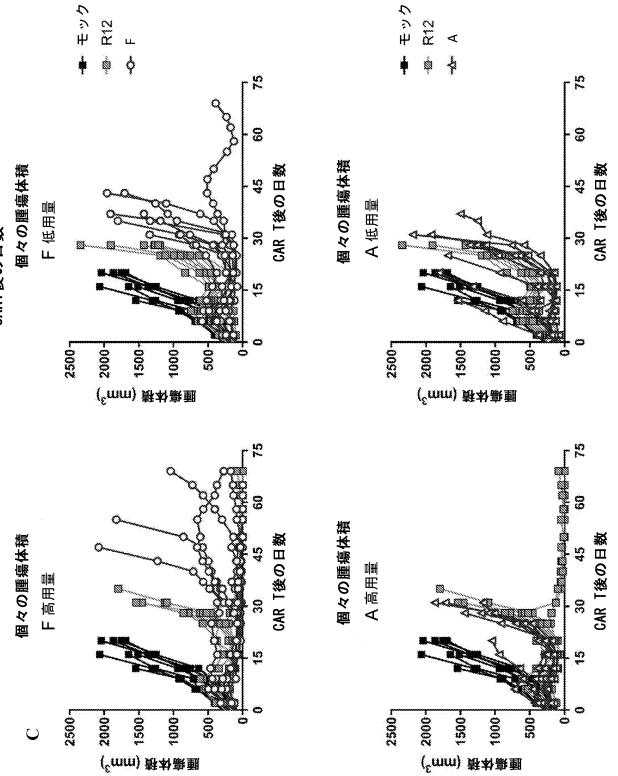
【図 7 - 3】



【図 8 - 1】



【図 8 - 2】



10

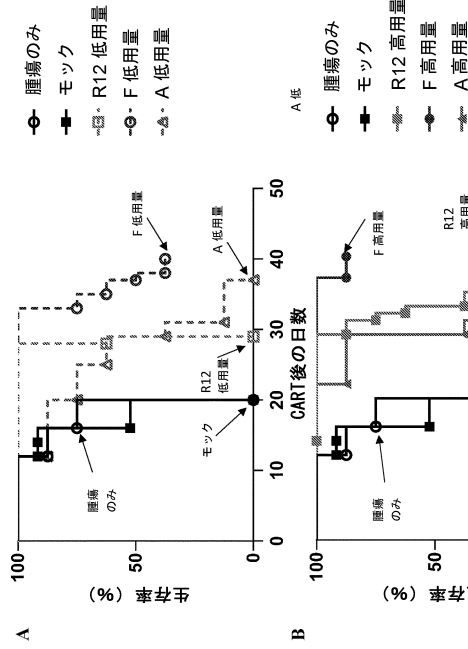
20

30

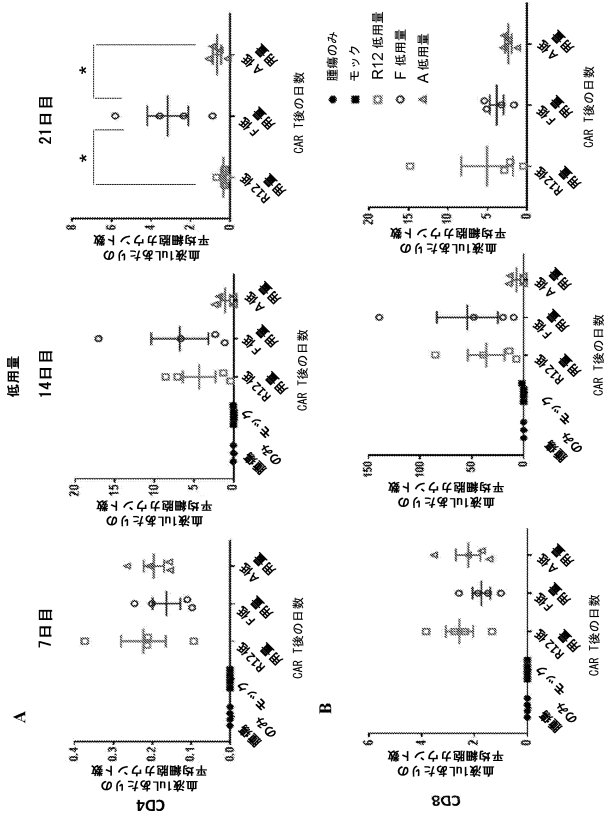
40

50

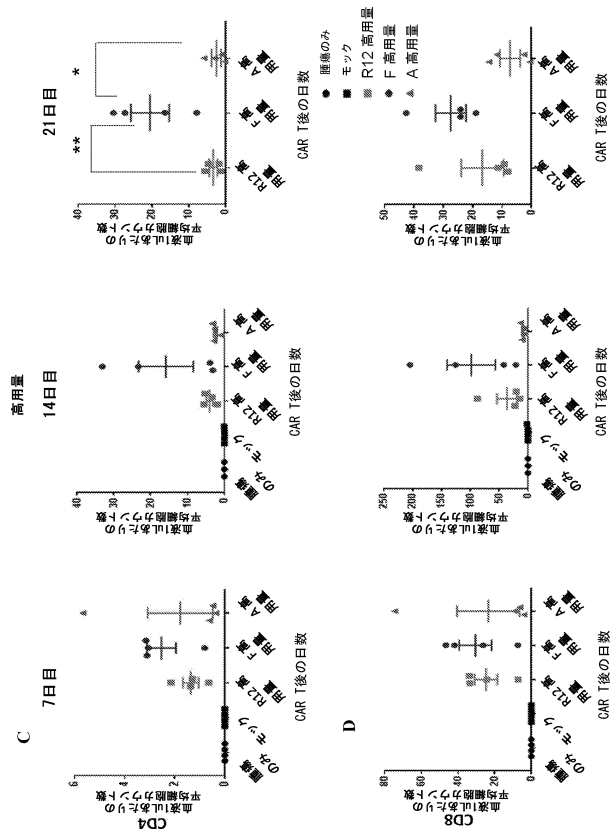
【図 9】



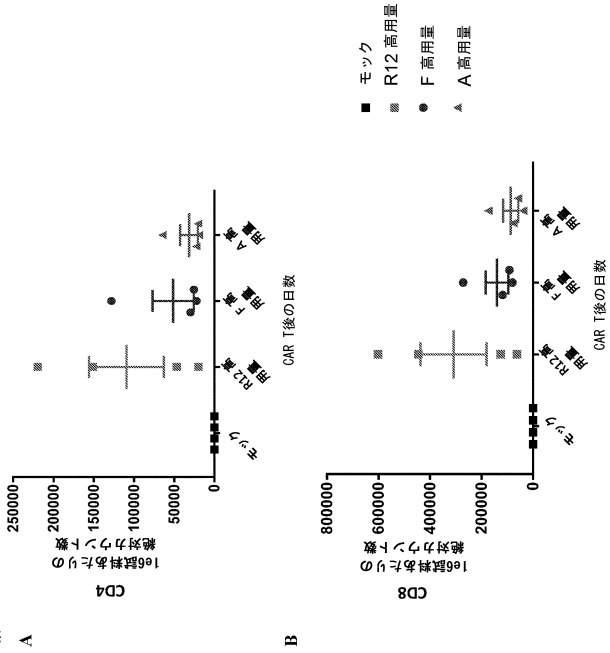
【図 10-1】



【図 10-2】



【図 11】



10

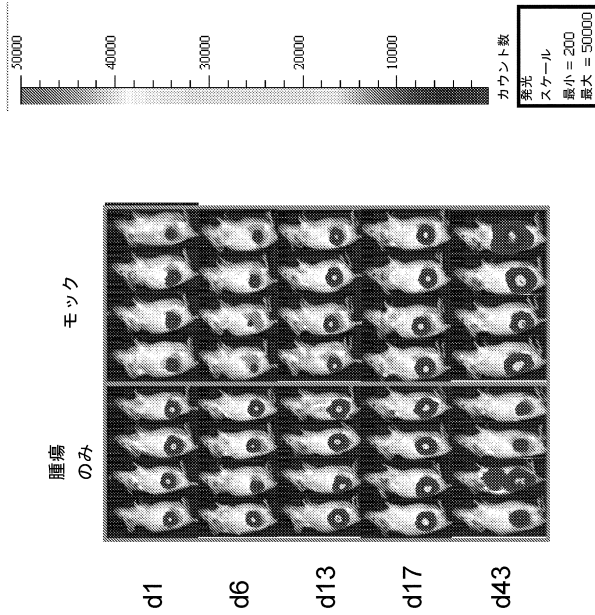
20

30

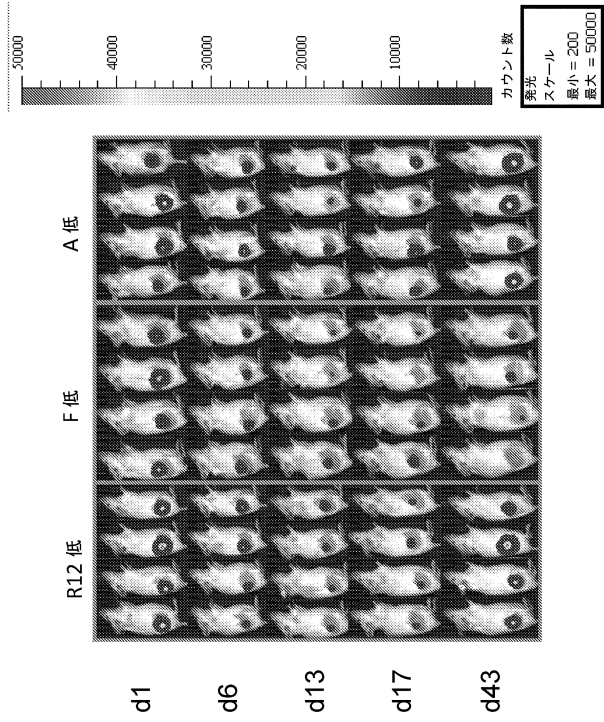
40

50

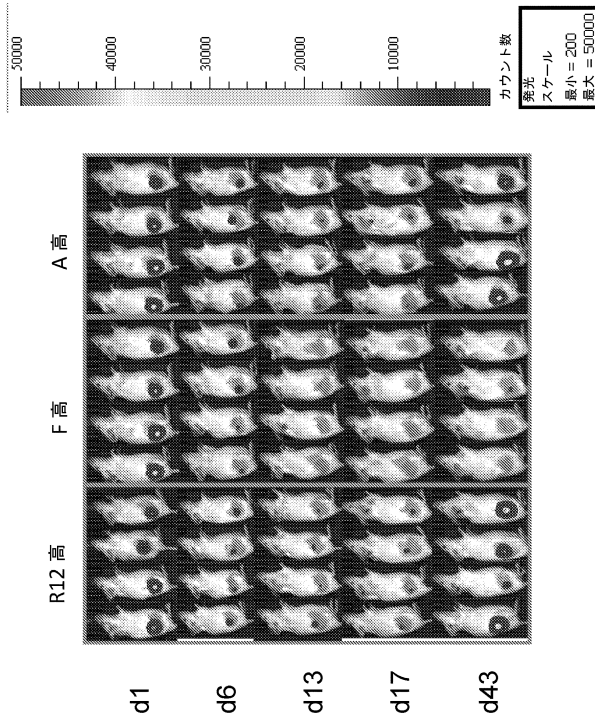
【図 1 2 A】



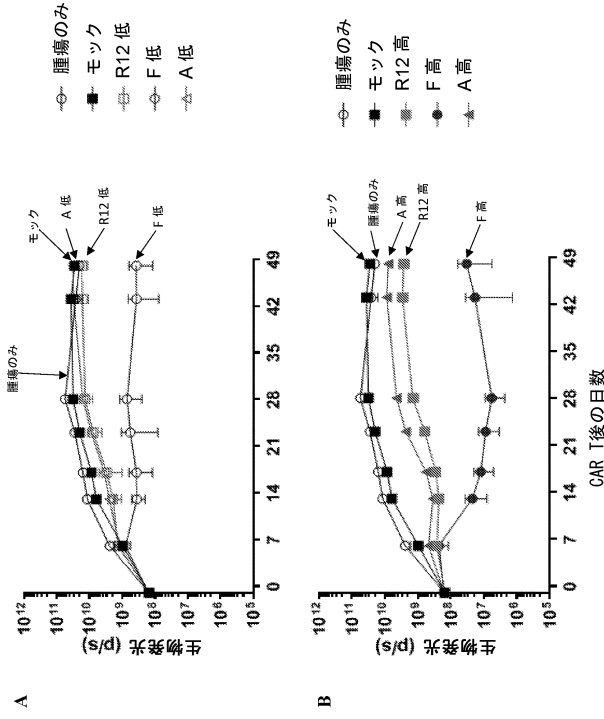
【図 1 2 B】



【図 1 2 C】



【図 1 3 - 1】



10

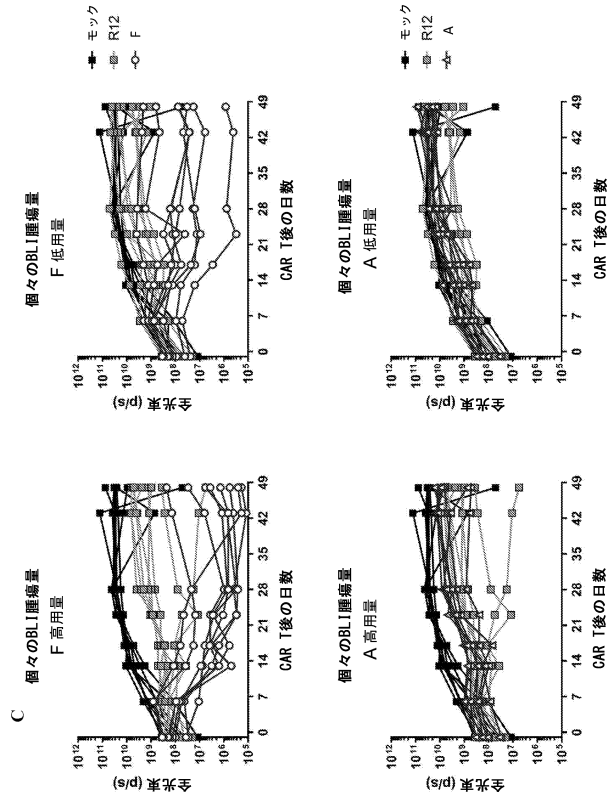
20

30

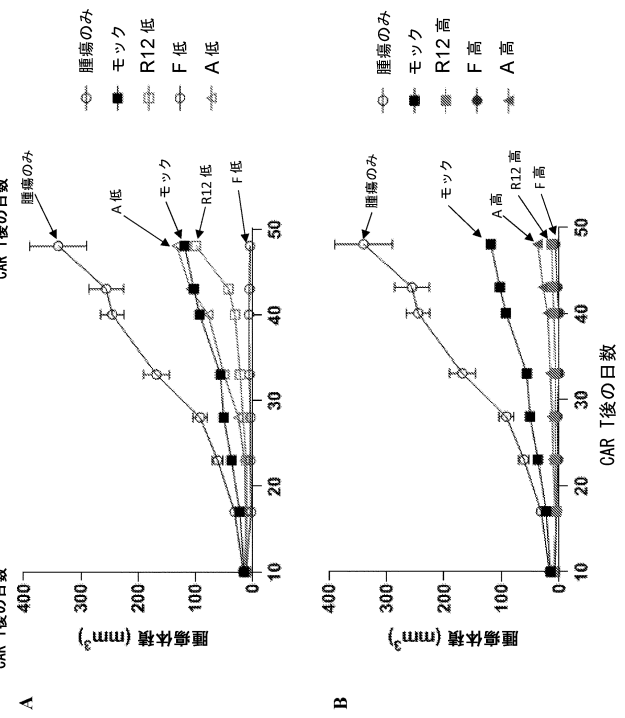
40

50

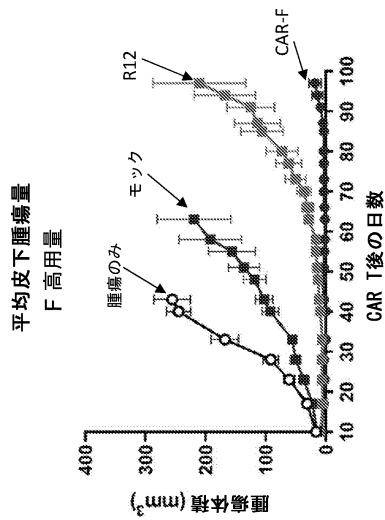
【図 13-2】



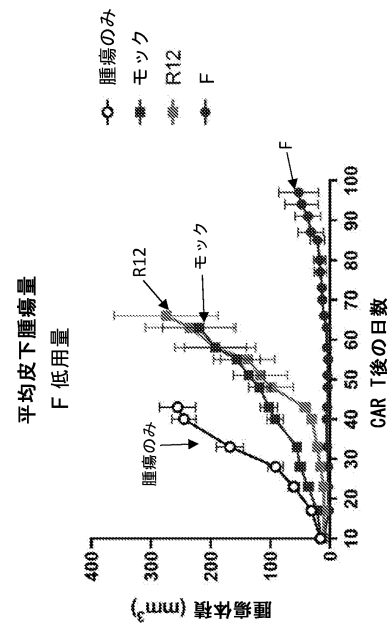
【図 14A-B】



【図 14C】



【図 14D】



10

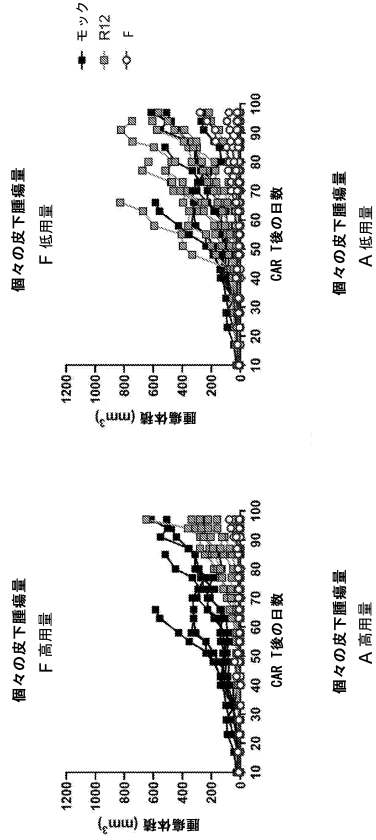
20

30

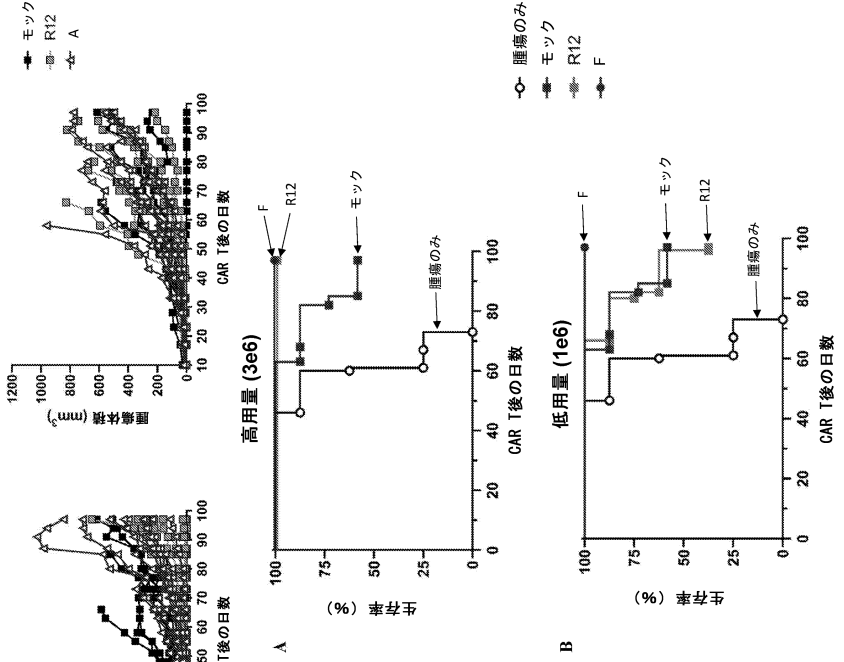
40

50

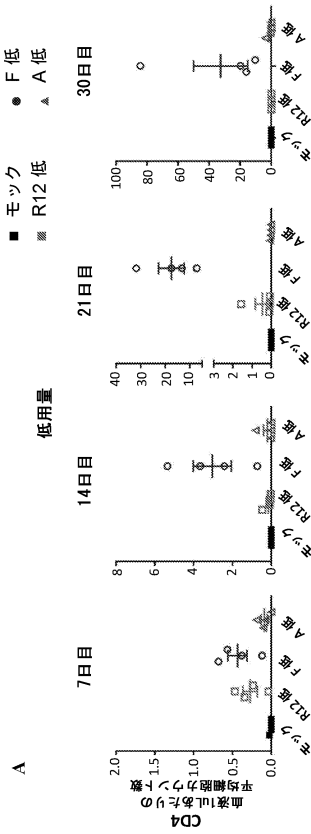
【図 14 E】



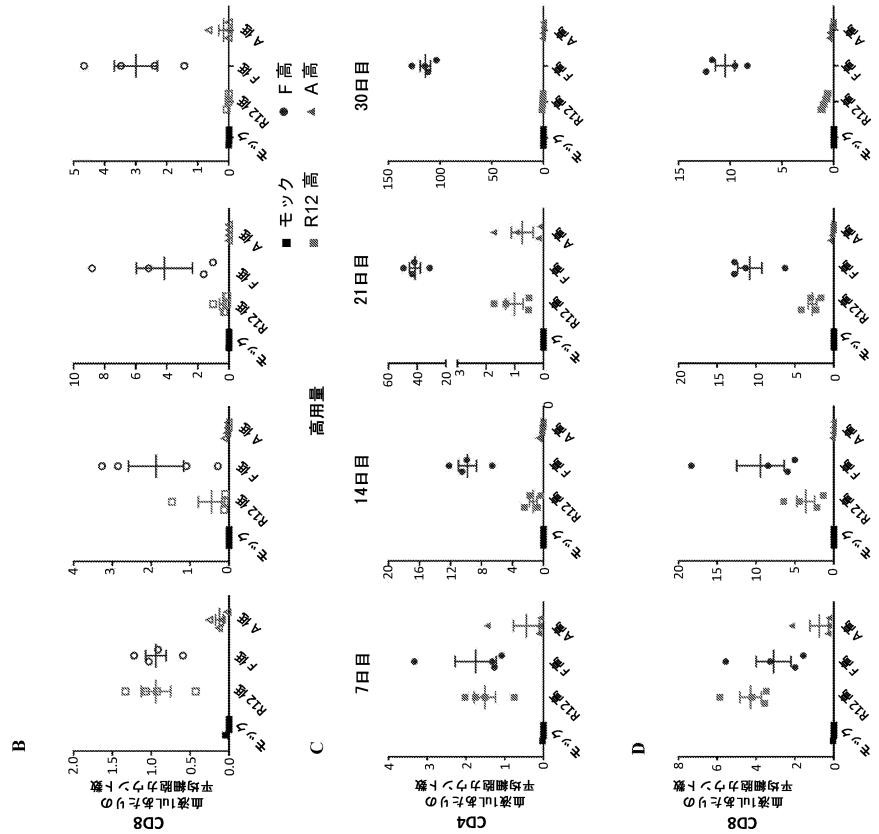
【図 15】



【図 16 - 1】



【図 16 - 2】



10

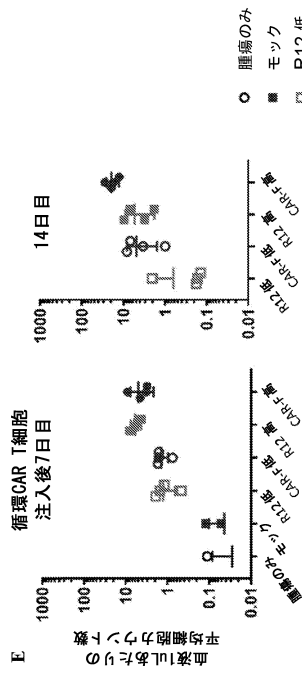
20

30

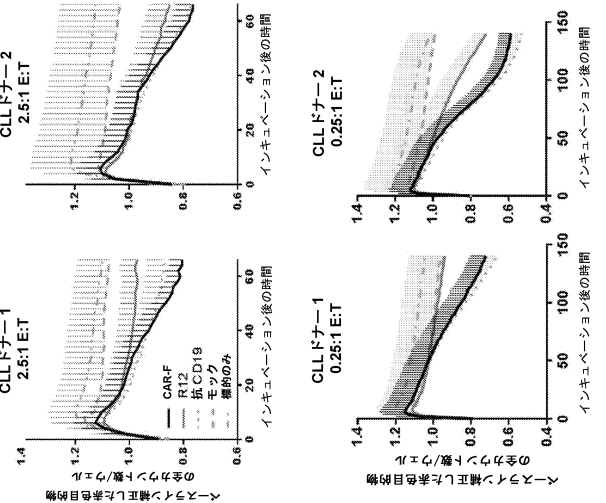
40

50

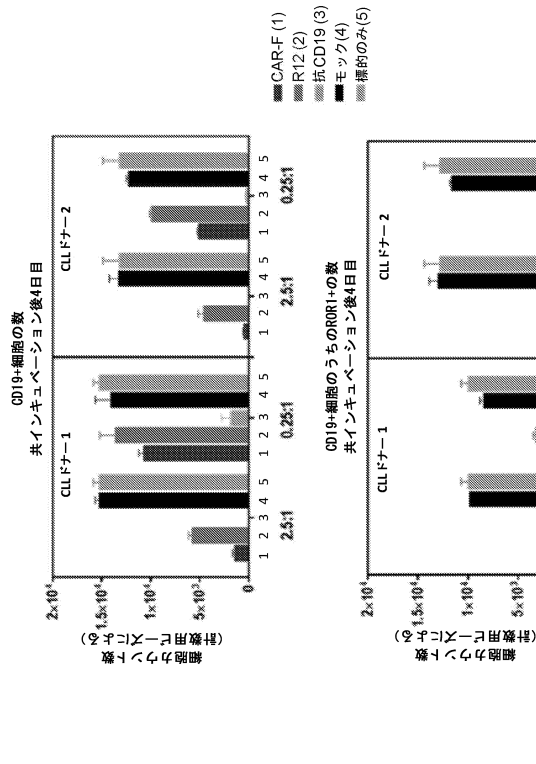
【図 16-3】



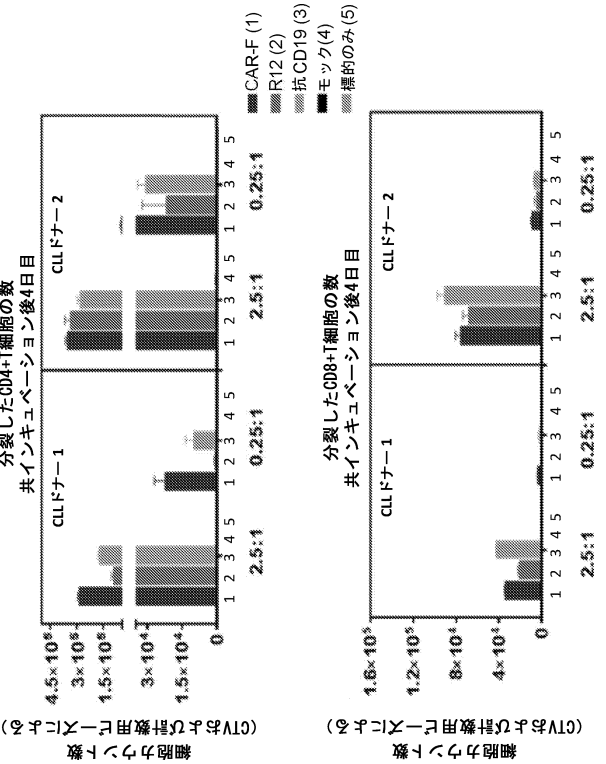
【図 17】



【図 18 A】



【図 18 B】



10

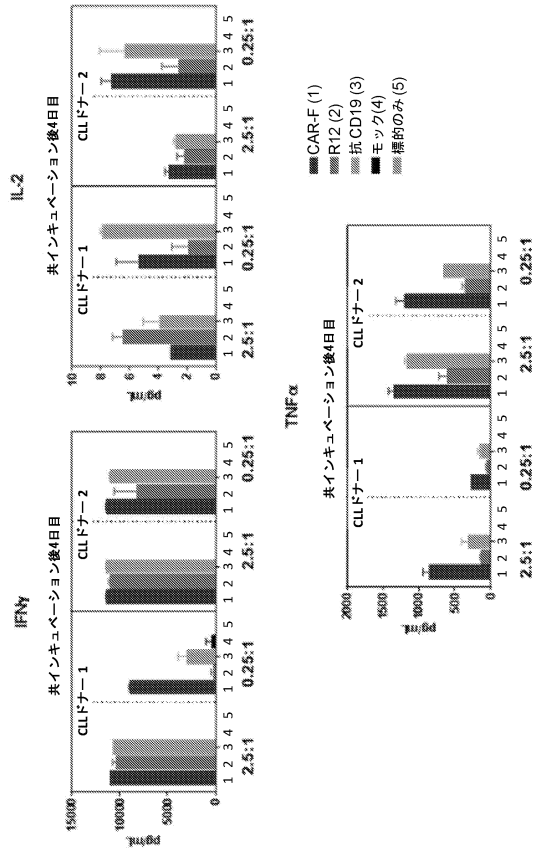
20

30

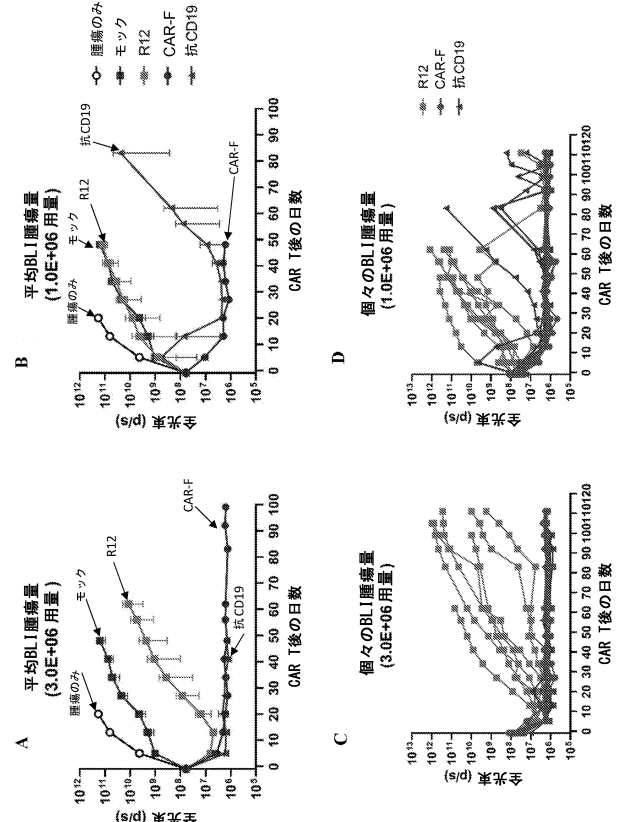
40

50

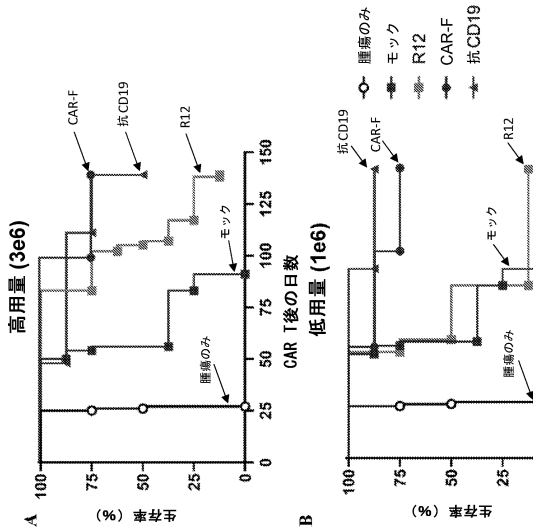
【図 18 C】



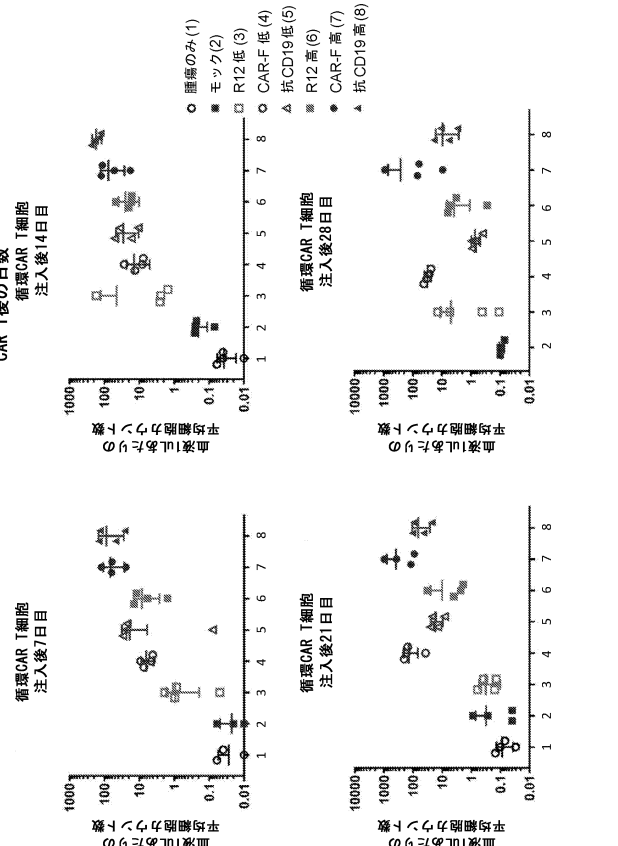
【図 19】



【図 20】



【図 21】



10

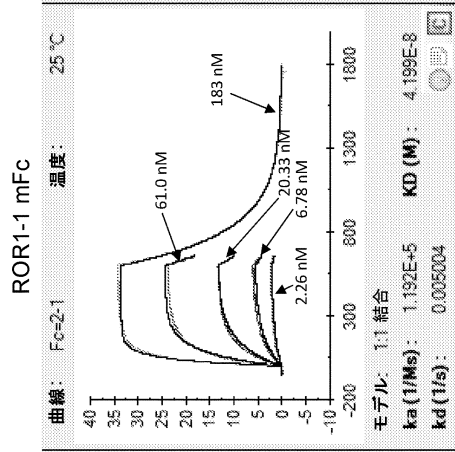
20

30

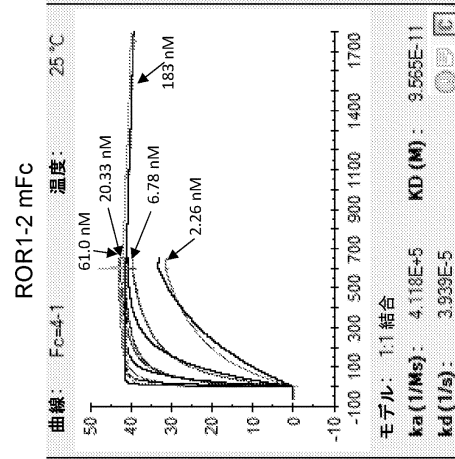
40

50

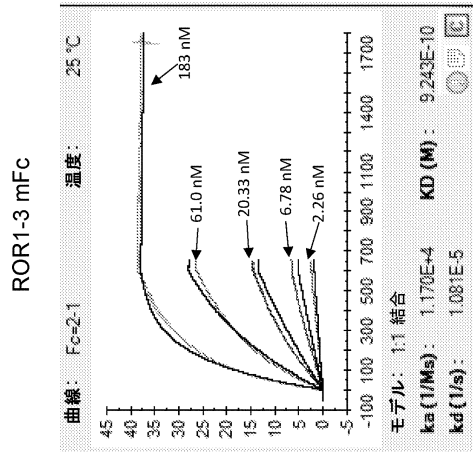
【図 2 2 A】



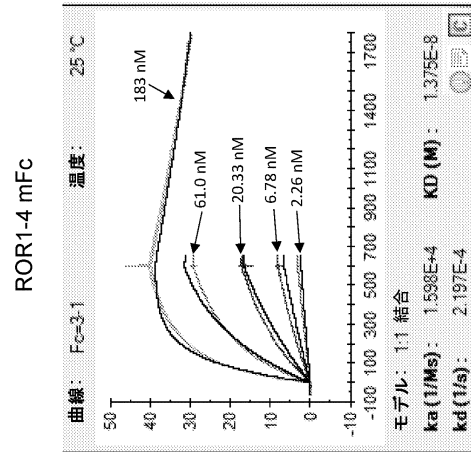
【図 2 2 B】



【図 2 2 C】



【図 2 2 D】



10

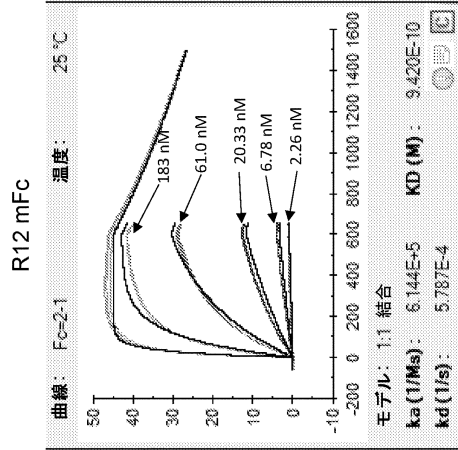
20

30

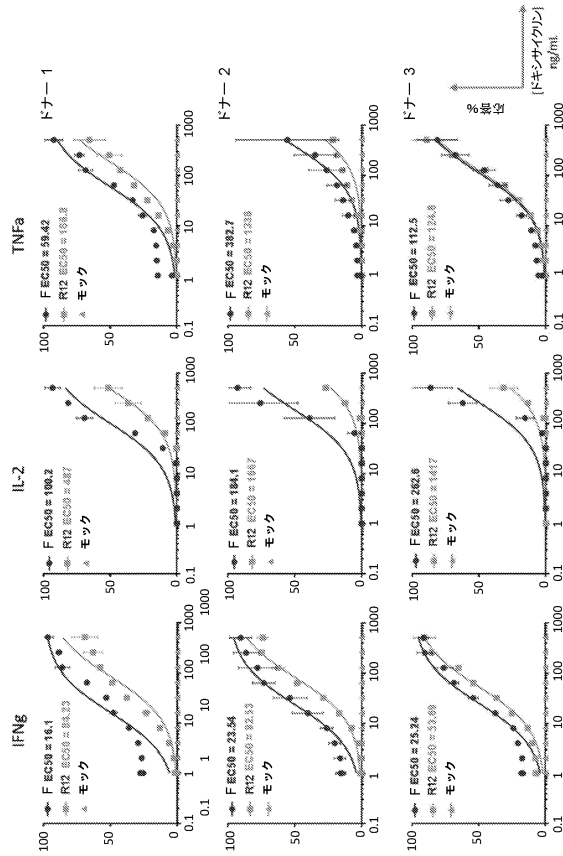
40

50

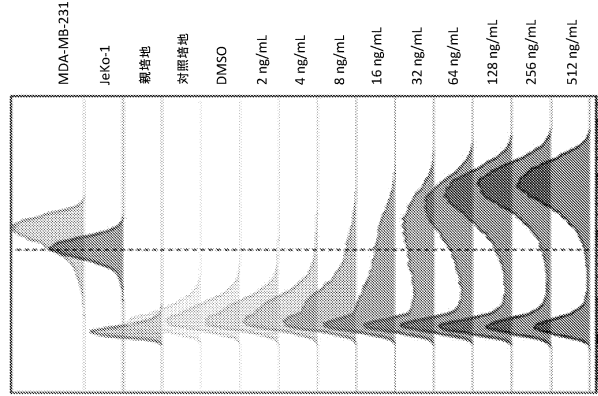
【図 2 2 E】



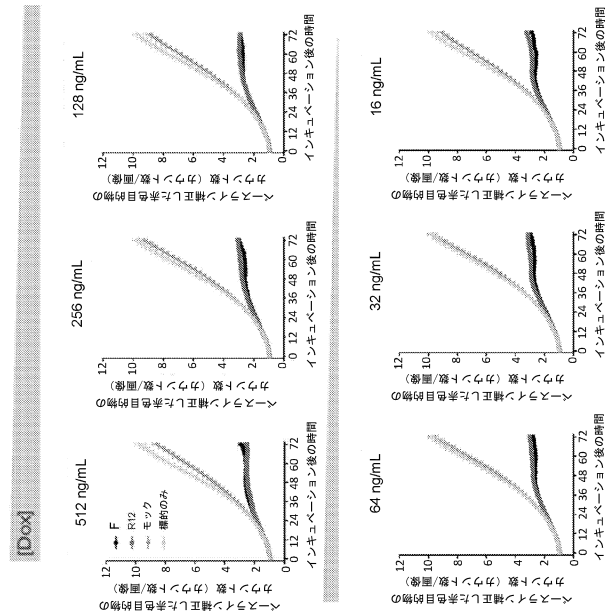
【図 2 4】



【図 2 3】



【図 2 5 A】



10

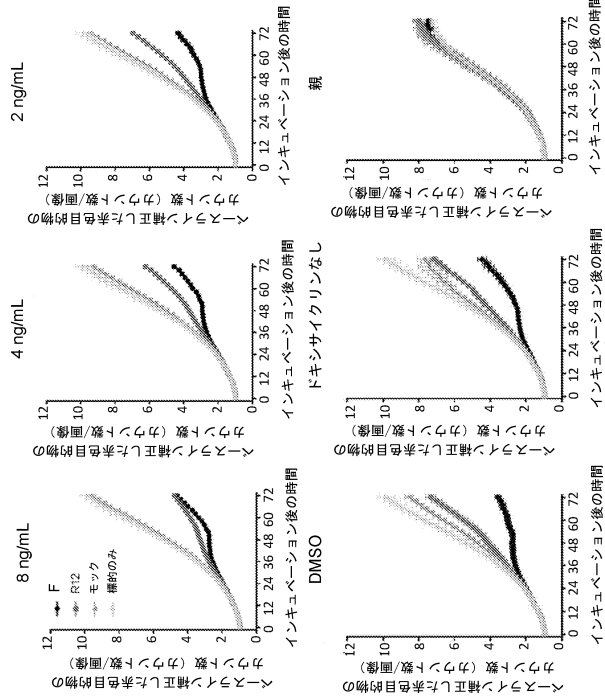
20

30

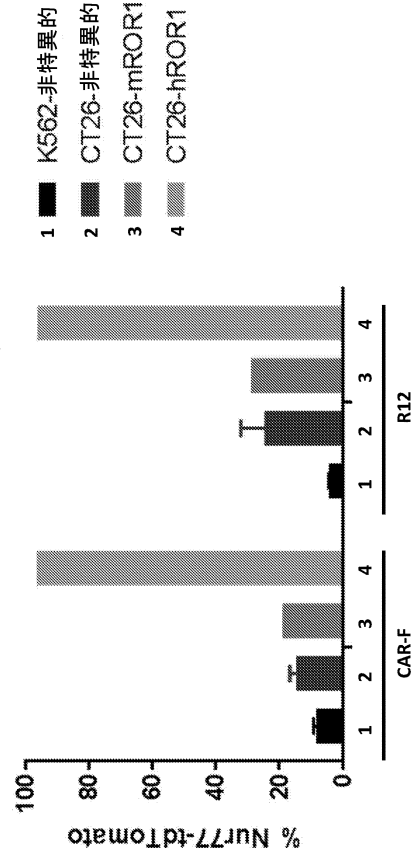
40

50

【図 25 B】



【図 26】



【配列表】

0007678753000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/86 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)
C 1 2 N 5/0783(2010.01)
A 6 1 K 39/395(2006.01)
A 6 1 K 38/02 (2006.01)
A 6 1 K 35/17 (2025.01)
A 6 1 K 31/7088(2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 P 11/00 (2006.01)
A 6 1 P 15/00 (2006.01)
A 6 1 P 35/02 (2006.01)

C 1 2 N 15/86 Z
C 1 2 N 5/10
C 1 2 N 5/0783
A 6 1 K 39/395 N
A 6 1 K 38/02
A 6 1 K 35/17
A 6 1 K 31/7088
A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 11/00
A 6 1 P 15/00
A 6 1 P 35/02

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 コスタ アンドレイア

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 ス
イート 1 2 0 0

(72)発明者 アミン ルベシュ

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 ス
イート 1 2 0 0

(72)発明者 バイリー ジェンナ

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 ス
イート 1 2 0 0

(72)発明者 ベディ サムリティ

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 ス
イート 1 2 0 0

(72)発明者 ベルモント ブライアン

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 ス
イート 1 2 0 0

(72)発明者 チェン アイ

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 ス
イート 1 2 0 0

(72)発明者 ゴールドフレス スティーブン ジェイコブ

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 ス
イート 1 2 0 0

(72)発明者 ジェフリー エリック

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 ス
イート 1 2 0 0

(72)発明者 ジャン ユエ

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0 0 ス
イート 1 2 0 0

-
- (72)発明者 オー ヨンジャー
アメリカ合衆国 98109 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 400 ス
イト 1200
- (72)発明者 ウィリアムズ メイドリン
アメリカ合衆国 98109 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 400 ス
イト 1200
- (72)発明者 ホーキンス コリン
アメリカ合衆国 98109 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 400 ス
イト 1200
- (72)発明者 シエラ キャサリン
アメリカ合衆国 98109 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 400 ス
イト 1200
- 審査官 坂井田 京
- (56)参考文献 国際公開第2010/124188 (WO, A1)
特表2015-532644 (JP, A)
特表2018-503380 (JP, A)
国際公開第2017/072361 (WO, A1)
特表2017-527275 (JP, A)
特表2014-510108 (JP, A)
国際公開第2018/197675 (WO, A1)
中国特許出願公開第107557337 (CN, A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C12N 15/00 - 15/90
C07K 16/00 - 16/46
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (ST
N)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
UniProt/GeneSeq
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq